

**UJI TOKSISITAS AKUT OBAT HERBAL “FAD” DITINJAU DARI NILAI
LD₅₀, HISTOLOGI GINJAL DAN HATI SERTA PENGARUHNYA
TERHADAP HEMATOLOGI PADA MENCIT PUTIH**

**YUSRINA AGUSTINA LUBIS
0606041251**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
PROGRAM EKSTENSI
DEPOK
2008**

**UJI TOKSISITAS AKUT OBAT HERBAL “FAD” DITINJAU DARI NILAI
LD₅₀, HISTOLOGI GINJAL DAN HATI SERTA PENGARUHNYA
TERHADAP HEMATOLOGI PADA MENCIT PUTIH**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**Oleh :
YUSRINA AGUSTINA LUBIS**



DEPOK

2008

**SKRIPSI : UJI TOKSISITAS AKUT OBAT HERBAL "FAD" DITINJAU DARI
NILAI LD₅₀, HISTOLOGI GINJAL DAN HATI SERTA
PENGARUHNYA TERHADAP HEMATOLOGI PADA MENCIT
PUTIH**

NAMA : YUSRINA AGUSTINA LUBIS

NPM : 0606041251

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, DESEMBER 2008

SANTI PURNA SARI, MSi

PEMBIMBING I

Dr. DADANG KUSMANA

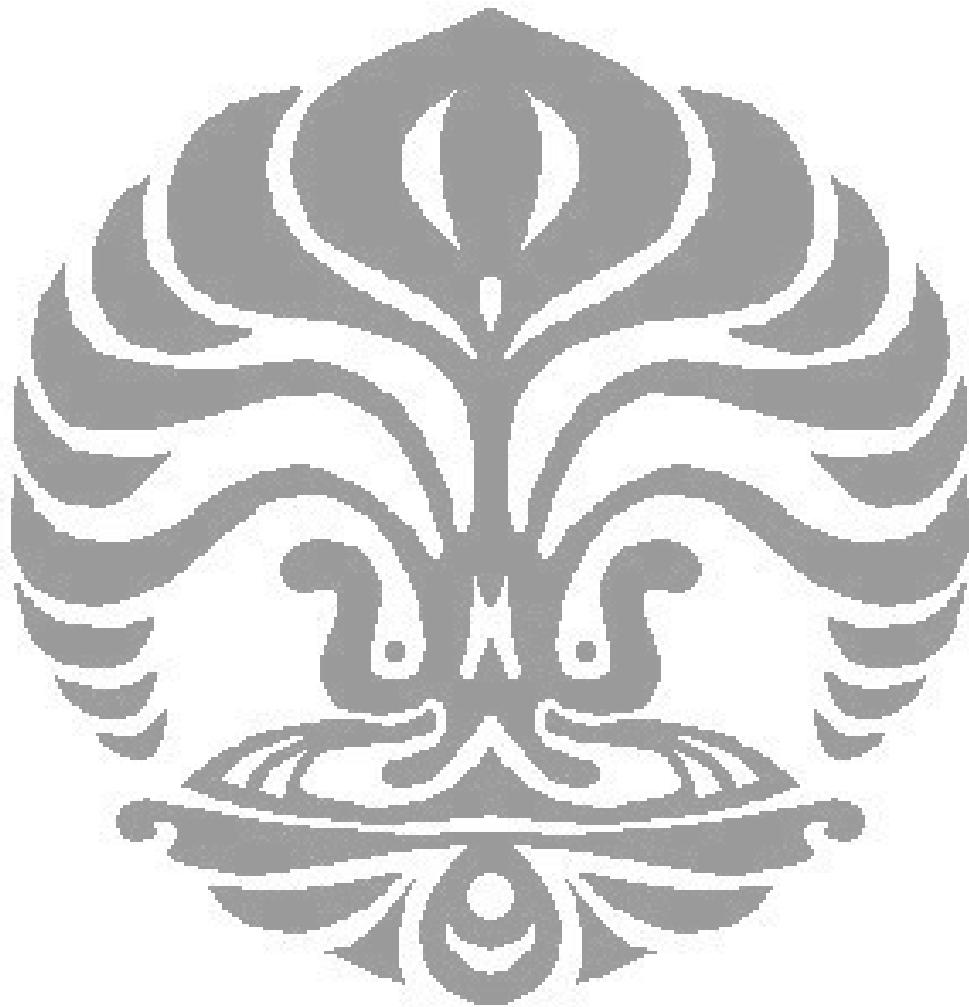
PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana : 22 Desember 2008

Penguji I : Dra. Maryati K, MSi.....

Penguji II : Prof. Dr. Endang Hanani, MSi.....

Penguji III : Dra. Syafrida Siregar.....



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil'alamin, tiada kata yang pantas terucap selain puji syukur atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi. Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Santi Purna Sari, MSi selaku pembimbing I dan Bapak Dr. Dadang Kusmana selaku pembimbing II yang telah memberikan masukan bimbingan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Dr. Katrin, MSi selaku pembimbing akademis yang telah banyak memberikan masukan dan bimbingan selama penulis menempuh studi.
3. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MSi selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Bapak Dr. Abdul Mun'im, MSi, selaku Ketua Program S1 Ekstensi Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Seluruh staf pengajar, laboran, dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu kelancaran dalam penelitian dan penyusunan skripsi.

6. Kedua orangtuaku tercinta dan adikku tersayang Mora yang senantiasa memberikan dukungan moril dan materil, semangat, doa, cinta dan sayangnya kepada penulis.
7. Sobat-sobat penelitian farmakologi Pita, Asri, Netty, Eti, Agung, Echa dan Inggit, terima kasih untuk kerjasama, bantuan, semangat yang begitu besar serta dukungannya selama penelitian berlangsung.
8. Sobat-sobat di Ekstensi 2006, khususnya sahabat-sahabatku Rika, Yessy, Ulfah, Mir, Rima, Bejo, Nenny dan Yulia terima kasih untuk dukungan, semangat, perhatian, canda-tawa & segala macam bentuk kontribusi yang pernah diberikan kepada penulis.
9. Bapak Surya dan bapak Hadison terima kasih atas bantuannya dan keceriaan selama penelitian.
10. Semua pihak yang tak dapat disebutkan dan telah memberikan bantuan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini. Semoga Allah menggantikan keikhlasan dengan kebaikan yang berlipat dan keberkahan.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik dari para pembaca.

P e n u l i s

2008

ABSTRAK

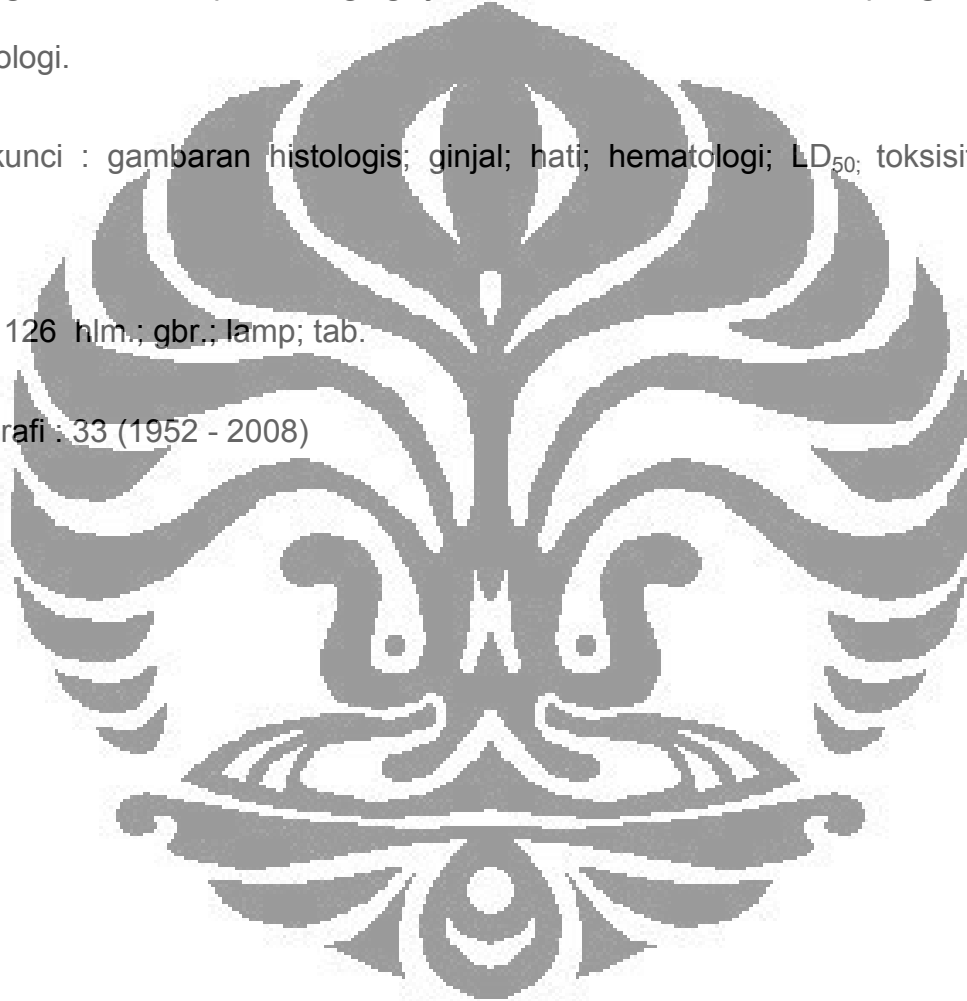
Obat herbal telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia dan secara empiris terbukti berkhasiat untuk pengobatan berbagai penyakit. Pengujian keamanan obat herbal sangat penting dan pada penelitian ini akan di uji toksisitas akut dari obat herbal "FAD". Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh nilai LD₅₀, mengetahui gambaran histologi ginjal dan hati serta pengaruh obat herbal "FAD" terhadap hematologi. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan menggunakan 50 ekor mencit putih masing-masing 25 ekor mencit jantan dan betina yang dibagi dalam lima kelompok perlakuan. Kelompok I diberi dosis uji 813,3 mg/kg bb, kelompok II diberi dosis uji 2033,3 mg/kg bb, kelompok III diberi dosis uji 5083,2 mg/kg bb, kelompok IV diberi dosis uji 12.708 mg/kg bb, dan kelompok V merupakan kelompok kontrol yang diberi larutan CMC 0,5%. Pengamatan jumlah kematian dilakukan 24 jam setelah pemberian larutan uji dan didapati bahwa tidak ada hewan uji yang mati sehingga nilai LD₅₀ tidak dapat ditentukan. Pada pemeriksaan hematologi penghitungan jumlah eritrosit, leukosit, trombosit dan hemoglobin, pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan secara statistik (*one way ANAVA*) tidak menunjukkan perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol ($\alpha = 0,05$). Demikian pula pada pemeriksaan histologi ginjal dan hati 14 hari setelah perlakuan secara

statistik (*one way ANAVA*) tidak menunjukkan perbedaan secara bermakna antara kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol ($\alpha = 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian obat herbal “FAD” secara oral pada dosis 813,3 mg/kg bb - 12.708 mg/kg bb tidak menimbulkan kematian, tidak berpengaruh terhadap histologi ginjal dan hati serta tidak mempengaruhi hematologi.

Kata kunci : gambaran histologis; ginjal; hati; hematologi; LD₅₀; toksisitas akut.

xviii + 126 hlm.; gbr.; lamp; tab.

Bibliografi : 33 (1952 - 2008)



ABSTRACT

Herbal medicine was being used for a long time by Indonesian people and empirically proven for many disease treatment. Toxicity study of herbal medicine is very important and in this research will be studied about acute toxicity testing of "FAD" herbal medicine. The aim of this research was to observe toxic effect of "FAD" herbal medicine, LD₅₀ value, find out the effect of "FAD" herbal medicine to kidney and liver histology, also to hematology. The research uses 50 white mice each male and female consisting of 25 and divided into 5 groups. Design of this research is Complete Random Design. Group I, II, III, IV are given dosage of "FAD" herbal medicine with 813,3 mg/kg bw, 2033,3 mg/kg bw, 5083,2 mg/kg bw, 12.708 mg/kg bw. While group V are given CMC 0,5% as control group. Number of death observation were done in 24 hours after giving "FAD" herbal medicine and eventually there are none the mice death so LD₅₀ value can not be established. Hematology investigation of erythrocyte, leucocyte, thrombocyte and haemoglobin count, in 24 hours and 14 days after experiment, based on statistic test (one way ANAVA) there is no significant difference between experiment and control group ($\alpha = 0,05$). Kidney and liver histology investigation in 14 days after experiment, based on statistic test (one way ANAVA) also showing no significant difference between experiment and control group ($\alpha = 0,05$). The results indicate the usage "FAD" herbal

medicine with oral administered at dosage 813,3 mg/kg bb – 12.708 mg/kg bb did not cause death in mice, did not influence kidney and liver histology, also did not influence mice hematology.

Keywords : histology picture; kidney; liver; haematology; LD₅₀; acute toxicity.

xviii + 126 pages; figures.; appendixes; tables.

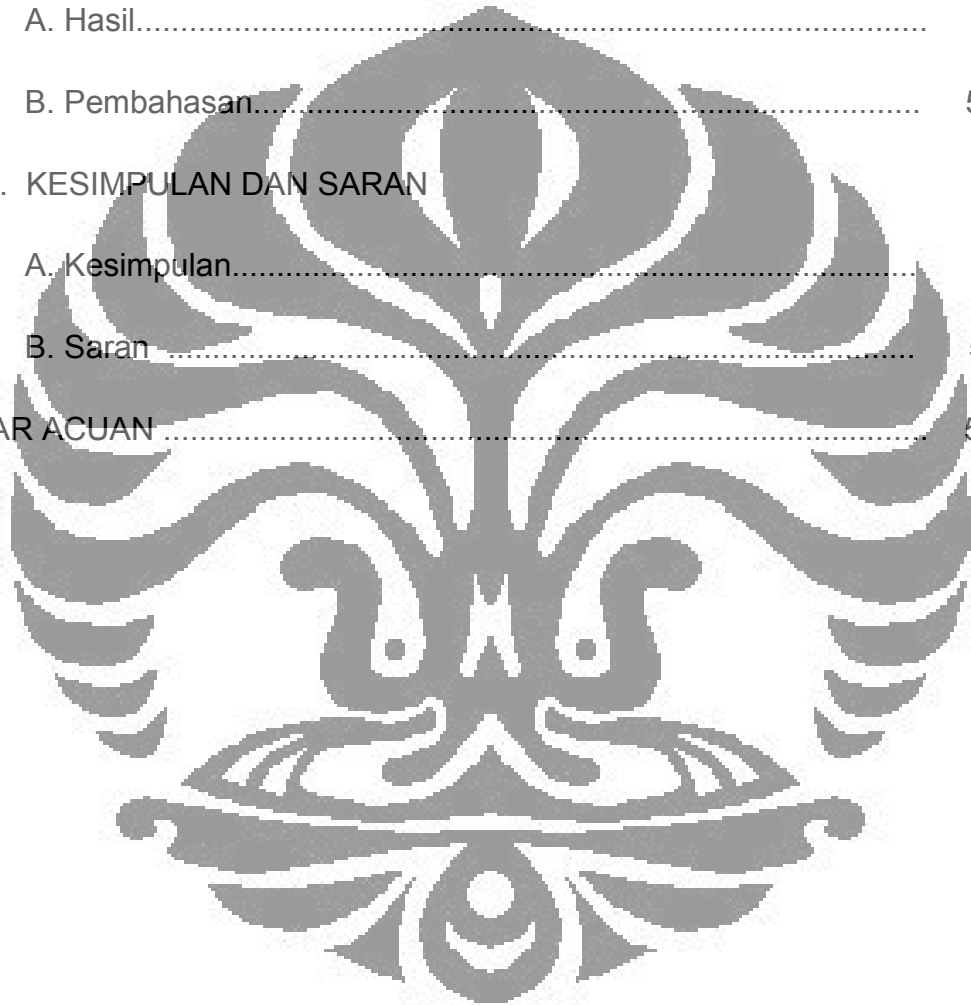
Bibliografi : 33 (1952 - 2008)



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	
A.Latar Belakang.....	1
B.Tujuan Penelitian.....	4
C. Hipotesis.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Obat Herbal “FAD”.....	6
B. Toksisitas	12
C. Ginjal	15
D. Hati.....	17
E. Darah.....	20
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	
A. Lokasi Dan Waktu Penelitian	25

B. Alat	25
C. Bahan.....	26
D. Rencana Kerja.....	27
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil.....	43
B. Pembahasan.....	51
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan.....	58
B. Saran	58
DAFTAR ACUAN	59



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Pengambilan darah mencit melalui sinus orbital mata.....	63
Gambar 2	Larutan uji.....	63
Gambar 3	Hemometer Sahli-Erka.....	64
Gambar 4	Hemositometer <i>Improved Neubauer</i>	64
Gambar 5	Arah penghitungan sel darah pada kamar hitung <i>Improved Neubauer</i>	65
Gambar 6	Diagram batang jumlah eritrosit rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	66
Gambar 7	Diagram batang jumlah eritrosit rata-rata mencit betina sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	66
Gambar 8	Diagram batang jumlah leukosit rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	67

Gambar 9	Diagram batang jumlah leukosit rata-rata mencit betina sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	67
Gambar 10	Diagram batang jumlah trombosit rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	68
Gambar 11	Diagram batang jumlah trombosit rata-rata mencit betina sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	68
Gambar 12	Diagram batang jumlah hemoglobin rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	69
Gambar 13	Diagram batang jumlah hemoglobin rata-rata mencit betina sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	69
Gambar 14	Diagram batang diameter kapsula bowman rata-rata mencit jantan setelah 14 hari perlakuan.....	70
Gambar 15	Diagram batang diameter kapsula bowman rata-rata mencit betina setelah 14 hari perlakuan.....	70

Gambar 16 Diagram batang jarak ruang antara kapsula bowman dengan glomerulus rata-rata mencit jantan setelah 14 hari perlakuan.....	71
Gambar 17 Diagram batang jarak ruang antara kapsula bowman dengan glomerulus rata-rata mencit betina setelah 14 hari perlakuan.....	71
Gambar 18 Diagram batang diameter vena sentralis rata-rata mencit jantan setelah 14 hari perlakuan.....	72
Gambar 19 Diagram batang diameter vena sentralis rata-rata mencit betina setelah 14 hari perlakuan.....	72
Gambar 20 Gambaran histologi ginjal kelompok betina (813,3 mg/kg bb), perbesaran 400x.....	73
Gambar 21 Gambaran histologi ginjal kelompok jantan (813,3 mg/kg bb), perbesaran 400x.....	73
Gambar 22 Gambaran histologi ginjal kelompok betina (dosis 2033,3 mg/kg bb), perbesaran 400x.....	74
Gambar 23 Gambaran histologi ginjal kelompok jantan (dosis 2033,3 mg/kg bb), perbesaran 400x	74
Gambar 24 Gambaran histologi ginjal kelompok betina (dosis 5083,2 mg/kg bb), perbesaran 400x.....	75

Gambar 25 Gambaran histologi ginjal kelompok jantan (dosis 5083,2 mg/kg bb), perbesaran 400x.....	75
Gambar 26 Gambaran histologi ginjal kelompok betina (dosis 12.708 mg/kg bb), perbesaran 400x.....	76
Gambar 27 Gambaran histologi ginjal kelompok jantan (dosis 12.708 mg/kg bb), perbesaran 400x.....	76
Gambar 28 Gambaran histologi ginjal kelompok betina kontrol normal (larutan CMC 0,5%), perbesaran 400x.....	77
Gambar 29 Gambaran histologi ginjal kelompok jantan kontrol normal (larutan CMC 0,5%), perbesaran 400x.....	77
Gambar 30 Gambaran histologi hati kelompok betina (813,3 mg/kg bb), perbesaran 400x	78
Gambar 31 Gambaran histologi hati kelompok jantan (813,3 mg/kg bb), perbesaran 400x	78
Gambar 32 Gambaran histologi hati kelompok betina (dosis 2033,3 mg/kg bb), perbesaran 400x	79
Gambar 33 Gambaran histologi hati kelompok jantan (dosis 2033,3 mg/kg bb), perbesaran 400x	79

Gambar 34	Gambaran histologi hati kelompok betina (dosis 5083,2 mg/kg bb), perbesaran 400x	80
Gambar 35	Gambaran histologi hati kelompok jantan (dosis 5083,2 mg/kg bb), perbesaran 400x	80
Gambar 36	Gambaran histologi hati kelompok betina (dosis 12.708 mg/kg bb), perbesaran 400x	81
Gambar 37	Gambaran histologi hati kelompok jantan (dosis 12.708 mg/kg bb), perbesaran 400x	81
Gambar 38	Gambaran histologi hati kelompok betina kontrol normal (larutan CMC 0,5%), perbesaran 400x.....	82
Gambar 39	Gambaran histologi hati kelompok jantan kelompok kontrol normal (larutan CMC 0,5%), perbesaran 400x.....	82
Gambar 40	Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan 10%.....	83
Gambar 41	Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan 10%.....	83
Gambar 42	Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan 10%.....	84

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Data hasil uji toksisitas akut obat herbal “FAD”	43
Tabel 2	Jumlah eritrosit rata-rata mencit putih hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	44
Tabel 3	Jumlah leukosit rata-rata mencit putih hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	45
Tabel 4	Jumlah trombosit rata-rata mencit putih hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	46
Tabel 5	Jumlah hemoglobin rata-rata mencit putih hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	47
Tabel 6	Diameter kapsula bowman rata-rata	48
Tabel 7	Jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula bowman rata-rata.....	49
Tabel 8	Diameter vena sentralis rata-rata	50
Tabel 9	Klasifikasi senyawa berdasarkan toksisitas relatif.....	85
Tabel 10	Pelaksanaan percobaan.....	85

Tabel 11 Jumlah eritrosit rata-rata mencit jantan hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	86
Tabel 12 Jumlah eritrosit rata-rata mencit betina hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	87
Tabel 13 Jumlah leukosit rata-rata mencit jantan hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan ...	88
Tabel 14 Jumlah leukosit rata-rata mencit betina hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan ...	89
Tabel 15 Jumlah trombosit rata-rata mencit jantan hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	90
Tabel 16 Jumlah trombosit rata-rata mencit betina hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	91
Tabel 17 Jumlah hemoglobin rata-rata mencit jantan hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	92
Tabel 18 Jumlah hemoglobin rata-rata mencit betina hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	93

Tabel 19 Hasil pengukuran diameter kapsula bowman rata-rata pada mencit jantan.....	94
Tabel 20 Hasil pengukuran diameter kapsula bowman rata-rata pada mencit betina.....	95
Tabel 21 Hasil pengukuran jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula bowman rata-rata pada mencit jantan.....	96
Tabel 22 Hasil pengukuran jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula bowman rata-rata pada mencit betina.....	97
Tabel 23 Hasil pengukuran diameter vena sentralis rata-rata pada mencit jantan.....	98
Tabel 24 Hasil pengukuran diameter vena sentralis rata-rata pada mencit betina.....	99
Tabel 25 Persentase kerusakan sel hati mencit jantan setelah 14 hari perlakuan.....	100
Tabel 26 Persentase kerusakan sel hati mencit betina setelah 14 hari perlakuan.....	101

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Penetapan dosis.....	102
Lampiran 2	Cara pembuatan larutan uji.....	103
Lampiran 3	Uji ANOVA terhadap jumlah eritrosit mencit jantan sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	104
Lampiran 4	Uji ANOVA terhadap jumlah eritrosit mencit betina sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	107
Lampiran 5	Uji ANOVA terhadap jumlah leukosit mencit jantan sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	109
Lampiran 6	Uji ANOVA terhadap jumlah leukosit mencit betina sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	111
Lampiran 7	Uji ANOVA terhadap jumlah trombosit mencit jantan sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	113
Lampiran 8	Uji ANOVA terhadap jumlah trombosit mencit betina sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	115
Lampiran 9	Uji ANOVA terhadap jumlah hemoglobin mencit jantan sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	117

Lampiran 10 Uji ANOVA terhadap jumlah hemoglobin mencit betina sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	119
Lampiran 11 Uji ANOVA terhadap diameter kapsula bowman mencit jantan dan betina.....	121
Lampiran 12 Uji ANOVA terhadap jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula bowman mencit jantan dan mencit betina.....	123
Lampiran 13 Uji ANOVA terhadap diameter vena sentralis mencit jantan dan mencit betina.....	125



BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik kronik yang prevalensinya terus meningkat di seluruh dunia. Berdasarkan hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) di Indonesia terjadi peningkatan prevalensi diabetes mellitus dari tahun 2001 sebesar 7,5% menjadi 10,4% pada tahun 2004. Sementara itu hasil survey BPS tahun 2003 menyatakan bahwa prevalensi diabetes mellitus mencapai 14,7% di perkotaan dan 7,1% di pedesaan. Hal tersebut semakin membuktikan bahwa penyakit diabetes mellitus merupakan masalah kesehatan masyarakat yang sangat serius (1). Diabetes melitus adalah suatu penyakit yang ditandai oleh hiperglikemia yang disebabkan oleh hiposekresi insulin ataupun insensitifitas insulin. Diabetes mellitus dapat meningkatkan resiko terjadinya komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular (2). Usaha-usaha yang dapat dilakukan untuk mengontrol kadar gula darah, salah satunya dengan menggunakan obat tradisional sebagai penunjang pengobatan konvensional pada penyakit diabetes mellitus.

Obat tradisional telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia dan secara empiris bermanfaat untuk pengobatan berbagai penyakit. Penelitian mengenai obat tradisional terus berkembang bahkan meningkat jumlahnya. Namun, hingga saat ini hanya beberapa penelitian obat tradisional yang dapat digunakan dalam fasilitas kesehatan, karena harus memenuhi syarat keamanan, manfaat dan terstandarisasi (3).

Umumnya obat tradisional dapat terdiri atas lebih dari satu macam simplisia yang bertujuan untuk meningkatkan efek terapinya sehingga proses penyembuhan cepat tercapai. Obat herbal "FAD" merupakan obat tradisional yang terdiri dari ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum* Nees), ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum*), ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.), dan kromium dengan khasiatnya sebagai antidiabetes. Kombinasi dari beberapa macam simplisia dan mineral dapat meningkatkan resiko terjadinya interaksi dan efek yang tidak diinginkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penilaian keamanan obat tradisional melalui uji praklinik dan uji klinik. Sebelum sampai pada tahap uji klinik, obat baru harus melewati uji praklinik pada hewan coba untuk mengetahui profil farmakologi, farmakodinamik, farmakokinetik serta toksisitasnya yang bertujuan untuk mengetahui dosis efektif dan memperkecil resikonya pada manusia (4).

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya terhadap kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum* Nees), klabet (*Trigonella foenum-graecum*), pare (*Momordica charantia* L.), dan kromium tidak menunjukkan adanya toksisitas. Pada salah satu studi menunjukkan bahwa pemberian serbuk fenugreek

secara intragastrik pada mencit putih (CFT-Swiss, *Mus musculus*) dan tikus putih (CFT-Wistar, *Rattus novergicus*) pada jantan dan betina tidak menunjukkan toksisitas ataupun kematian sampai dosis maksimum 2 dan 5 g/kg bb. Kemudian, tidak terdapat perubahan signifikan pada berat organ ataupun histologi mencit dan tikus setelah dilakukan autopsi (5). Pengujian toksisitas akut terhadap ekstrak pare menggunakan mencit dengan dosis masing-masing 1,2,4, dan 8 g/kg ekstrak secara oral, menunjukkan bahwa pada rentang dosis 1.0-8.0 g/kg mencit tidak menimbulkan kematian, tetapi terdapat perubahan tingkah laku, yaitu penurunan aktivitas, ataksia, dan hiperventilasi (6). Penelitian lainnya menyebutkan bahwa ekstrak kering daun dan buah pare dosis 192,19 mg/kg bb hingga 33.333,47 mg/kg bb tidak menimbulkan efek toksik, tidak menyebabkan kerusakan pada organ secara mikroskopik maupun makroskopik, dan tidak diperoleh dosis yang mengakibatkan kematian mencit (7). Penelitian uji toksisitas akut kulit kayu manis diperoleh hasil bahwa dosis LD₅₀ ekstrak cinnamon pada tikus sebesar 4,16 g/kg bb dan 3,4 ml/kg bb (8). Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada tikus, kromium tidak toksik jika dibandingkan dengan mineral lainnya dan dilaporkan bahwa tidak ada toksisitas pada reproduksi akibat efek dari suplemen kromium, tetapi uji klinis suplemen kromium belum banyak dilaporkan (9).

Pemanfaatan ekstrak tanaman kayu manis, biji klabet, pare dan kromium harus terlebih dahulu diuji toksisitasnya. Uji toksisitas yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji toksisitas akut yang bertujuan untuk

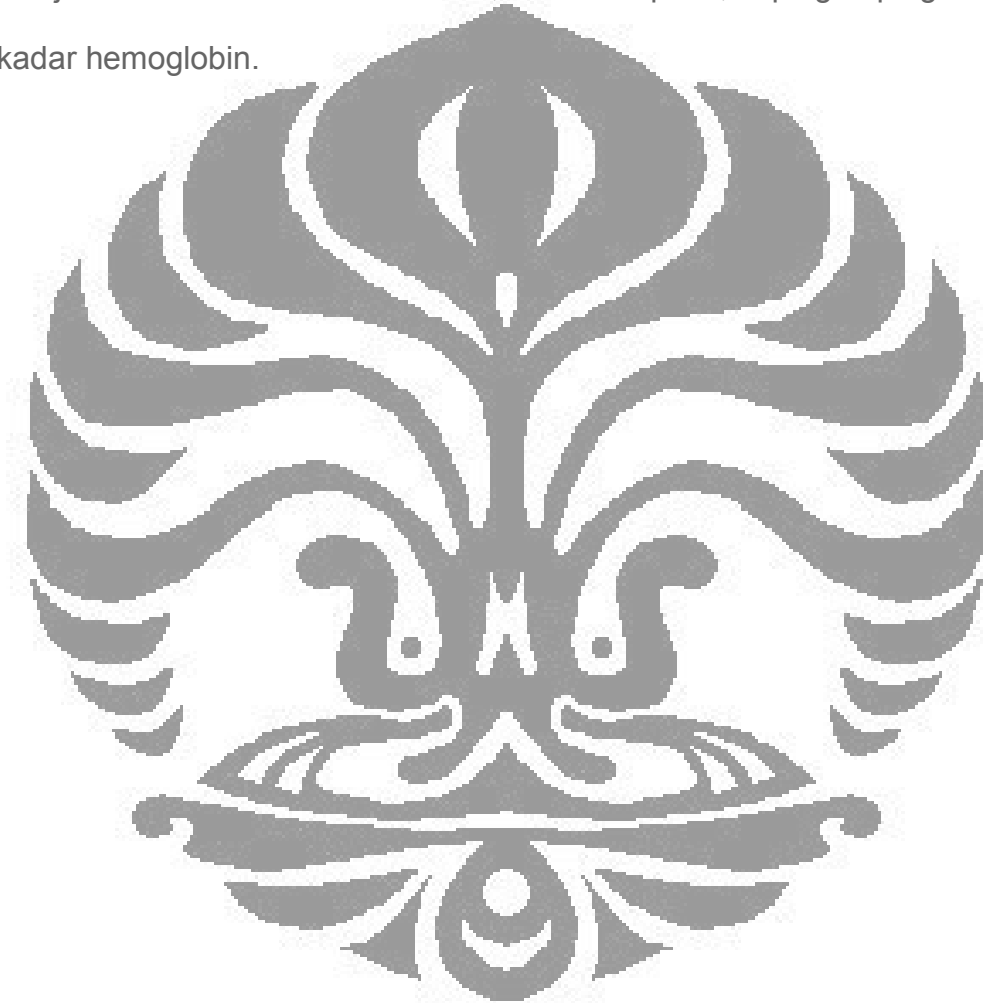
menentukan dosis letal median (LD_{50}) obat, informasi mengenai organ sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya, serta petunjuk mengenai dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian yang lebih lama (10). Penggunaan obat herbal "FAD" sebagai antidiabetes dilakukan dalam jangka waktu yang lama dan berulang sehingga perlu dilihat pengaruhnya terhadap hematologi, ginjal dan hati. Unsur-unsur darah (eritrosit, leukosit, trombosit) penting untuk diamati, karena morfologi, jumlah, dan perbandingan berbagai macam jenis sel-sel merupakan indikator dari berbagai perubahan patologis dalam tubuh (11). Hati dan ginjal merupakan organ penting untuk mengekskresi zat toksik dalam tubuh, sehingga seringkali sebagai organ sasaran toksikan. Oleh karena itu, untuk mengetahui kerusakan yang terjadi secara mikroskopis pada ginjal dan hati maka dilakukan pemeriksaan histologi terhadap ginjal dan hati.

B. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan nilai LD_{50} dan mengetahui pengaruh pemberian obat herbal "FAD" terhadap gambaran histologi ginjal dan hati serta pengaruhnya terhadap hematologi yang ditinjau dari kadar sel darah merah, sel darah putih, keping-keping darah, dan kadar hemoglobin.

C. HIPOTESIS

Pemberian obat herbal “FAD” tidak toksik terhadap hewan uji mencit putih, tidak mempengaruhi histologi ginjal dan hati serta hematologi yang ditinjau dari kadar sel darah merah, sel darah putih, keping-keping darah, dan kadar hemoglobin.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. OBAT HERBAL “FAD”

Obat herbal “FAD” memiliki empat komponen, yaitu kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum* Nees), klabet (*Trigonella foenum-graecum*), pare (*Momordica charantia* L.), dan kromium.

1. Kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum* Nees)

Tanaman kayu manis memiliki klasifikasi sebagai berikut (12) :

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Ranunculales
Suku	: Lauraceae
Marga	: Cinnamomum
Jenis	: <i>Cinnamomum zeylanicum</i>

Cinnamon terdiri dari tiga jenis, yaitu Cinnamon Cayenne, Cinnamon Saigon dan *C. aromaticum* Nees. Cinnamon Cayenne diambil dari kulit batang pohon *C. zeylanicum*, dibudidayakan dan tumbuh di Guyana

Perancis, Brazil, dan Kepulauan Karibia. Cinnamon Saigon (Cinnamon NF) diperoleh dari pohon liar *C. loureirii* Nees yang banyak tumbuh di daerah pegunungan Annam. Pohon ini juga ditemukan di Cina dan Jepang. Cinnamon Saigon memiliki kemiripan dengan *C. cassia*. Dan yang terakhir adalah *C. aromaticum* Nees, berasal dari Cina (13).

Tanaman berbentuk pohon, tinggi 6-12 m, daun bulat telur atau elips memanjang, ujung membulat atau tumpul meruncing dengan ukuran 4-7 cm. Pada sisi atas daun, tulang daun lateral dari bagian atas tidak menonjol. Daun muda berwarna merah. Kulit pohon kuat, sisi bawah berwarna abu-abu. Bunga malai yang bercabang duduk di ketiak dengan cabang yang berambut abu-abu. Buah buni bulat memanjang, merah, pangkalnya tersembunyi dalam tenda bunga (14).

Kayu manis mengandung beberapa zat berkhasiat diantaranya, minyak atsiri yang terdiri dari sinamaldehid (sampai 80%), eugenol 10%, dan kulit kayunya mengandung *caryophyllene*, sinamil asetat dan *linalool* (8). Bagian-bagian kayu manis memiliki banyak manfaat, kulit kayunya berkhasiat sebagai karminatif, astringen, hemostatik, antiseptik. Daunnya bermanfaat sebagai antidiabetes, dan akarnya digunakan sebagai antidiare, disentri, kram perut, dan iritasi gastrik. Kayu manis sebagai obat luar digunakan untuk sakit gigi, neuralgia dan rematik (15).

2. Klabet (*Trigonella foenum-graecum*)

Fenugreek memiliki klasifikasi sebagai berikut (12) :

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Rosales
Suku	: Fabaceae
Marga	: <i>Trigonella</i>
Jenis	: <i>Trigonella foenum-graecum</i> Linn.

Trigonella foenum-graecum Linn. (*Fenugreek*) di Indonesia dikenal dengan nama klabet, banyak digunakan sebagai obat tradisional. *Fenugreek* banyak dikultivasi di wilayah Mediteran, Cina, India dan Indonesia. *Fenugreek* memiliki tinggi 60 cm. Batang tua berwarna hijau sampai ungu. Daun muda berukuran panjang 1,5-4 cm dan lebar 0,5-2 cm. Bunga berukuran 12-15 mm. Buah memiliki ukuran pembuluh yang kecil dengan panjang 2-3 mm. Biji klabet berukuran panjang 5 mm dan lebar 2-3 mm, berkerut yang terbagi dalam dua lobus (16).

Komponen kimia utama dari *Fenugreek* adalah serat, asam tanat, minyak atsiri, steroid saponin, flavonoid, polisakarida, alkaloid, trigonelin, trigokumarin, trigometil kumarin, mucilago (sampai 30%), asam amino (lisin, hidroksileusin, triptofan, histidin, arginin) dan vitamin A, C, D, B1, B2 dan B3 (8). *Fenugreek* bermanfaat sebagai terapi penunjang pada hiperkolesterolemia dan hiperglikemia pada kasus hipertensi, penghilang

nafsu makan serta antiinflamasi. Pada pengobatan tradisional digunakan sebagai afrodisiak, karminatif, diuretik, emolien, antibronkhitis, antidiare, eksim, gout, demam, impoten, batuk kronik, dan penyakit liver (16).

Pada salah satu uji praklinis, pemberian oral 250 mg per hari larutan atau ekstrak metanol dari biji *Fenugreek* pada tikus normal dan tikus diabetes secara signifikan menurunkan kadar gula darah setelah makan atau pemberian glukosa (16). Uji klinis *Fenugreek* pada 60 pasien diabetes tipe 2, 25 g serbuk biji *Fenugreek* yang diberikan bersamaan dengan makan siang dan makan malam selama 24 minggu, secara signifikan dapat mengurangi kadar glukosa darah puasa dan gejala diabetes (8).

3. Pare (*Momordica charantia*)

Tanaman pare memiliki klasifikasi sebagai berikut (17) :

Dunia : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Cucurbitales
Suku : Cucurbitaceae
Marga : Momordica
Jenis : *Momordica charantia* Linn.

Pare dikenal dengan berbagai nama, misalnya prieu; foria; kambeh; pepare; paria (Sumatra); paria, pepare; pareh (Jawa); paya; truwuk; paria;

palita; paliak; pariak; pania; pepule (Nusa Tenggara); dan lain-lain. Pare merupakan tanaman memanjat. Daun memiliki 5-7 lobus dengan ukuran yang bervariasi. Bunga uniseksual, tubular, memiliki 5 lobus, berukuran sedang, dengan warna kuning pucat sampai oranye. Buah dan bunga sejak dulu digunakan sebagai sayur (18).

Pare mengandung visine, glikosida, momorkarasida A, B, triterpen kukurbitan, momordisin I dan II, sikloeukalenol, spinasterol, stigmasterol, taraxerollofenol, momordikosida, diosgenin, tiosianogenin, 24-metilsikloartenol, fenilpropanoid, karotenoid, squalen, stigmastadien-3- β -ol dan glukosida, momordin, asam trikosapat, dan sedikit minyak lemak (18).

Berbagai bagian tanaman pare memiliki banyak manfaat. Buah atau biji pare digunakan sebagai antidiabetes, buah sebagai stomakik, laksatif, antiemetik, antelmintika. Selain itu juga digunakan sebagai obat batuk, gangguan saluran nafas, penyakit kulit, gout dan rematik. Daun sebagai antiemetik, purgatif dan akarnya sebagai antihemoroid (15).

Uji praklinis pada kelinci menunjukkan bahwa karantin yang terkandung dalam buah pare dapat menurunkan kadar glukosa darah setelah 4 jam pemberian secara injeksi. Berdasarkan uji klinis yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa ekstrak cair atau jus pare secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah pada pasien diabetes (18).

4. Kromium

Kromium merupakan mineral yang sangat penting sebagai pengobatan penunjang pada penyakit diabetes. Kromium terdapat dalam dua valensi yaitu, kromium heksavalen (kromium VI) dan kromium trivalen (kromium III). Bentuk heksavalen digunakan dalam industri, sedangkan bentuk trivalen merupakan mineral esensial tubuh dan suplemen tubuh.

Kromium trivalen merupakan elemen esensial untuk metabolisme normal karbohidrat dan insensitifitas insulin, membantu transportasi glukosa ke dalam sel. Kromium meningkatkan kontrol glikemia dengan meningkatkan aksi insulin; memperbaiki kemampuan insulin terikat ke dalam sel; meningkatkan sensitifitas sel-beta; meningkatkan jumlah reseptor insulin; dan mengaktivasi insulin reseptor kinase (8).

Salah satu studi menunjukkan bahwa penggunaan kromium pikolinat 200 dan 1000 µg/hari pada pasien diabetes tipe-2 yang dianjurkan untuk melanjutkan pengobatan, diet dan mengatur pola hidup, kadar glukosa darah puasa menurun pada penggunaan 1000 µg kromium setelah 2 dan 4 bulan pengobatan. Kadar glukosa darah dua jam menurun secara signifikan pada penggunaan 1000 µg kromium setelah 2 dan 4 bulan pengobatan. Selain itu, kadar kolesterol total plasma menurun setelah pemberian 1000 µg kromium setelah 4 bulan (8).

Uji klinis yang telah dilakukan terhadap kromium membuktikan bahwa penurunan glukosa puasa dengan dosis 600 µg dari 14.4 mmol/L menjadi 6.6 mmol/L diperoleh dengan pemakaian suplemen kromium sebagai kromium klorida selama 16 sampai 32 minggu. Sedangkan penelitian lain menyebutkan bahwa memberikan respon positif terhadap kadar lipid darah dengan pemakaian 250 µg/hari, tetapi untuk hasil lebih signifikan pemakaian dilanjutkan selama 28 sampai 64 minggu (9).

B. TOKSISITAS

Penggunaan obat tradisional dalam bidang kesehatan terus meningkat, dan seiring dengan perkembangannya harus disertai dengan data keamanan agar dapat dimanfaatkan oleh manusia. Sebelum digunakan secara luas, obat tradisional harus melalui tahapan uji praklinik yang terdiri atas uji toksikologi untuk menilai keamanan obat yang diuji dan spektrum efek toksik, serta uji farmakodinamik untuk memberikan informasi tentang khasiat. Kemudian dilanjutkan dengan uji klinik pada manusia untuk membuktikan manfaat obat tradisional sesuai dengan indikasi yang diajukan, serta memastikan status keamanan obat tradisional pada manusia (3).

Toksisitas adalah efek toksik suatu zat baik bahan kimia ataupun obat terhadap organ target. Uji toksisitas terdiri dari 2 jenis, yaitu toksisitas umum yang terdiri dari toksisitas akut, sub akut atau sub kronis, kronis dan toksisitas

khusus yang terdiri dari uji toksisitas teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik (3).

Umumnya uji toksisitas dibagi menjadi tiga, yaitu uji toksisitas akut dengan pemberian obat dosis tunggal ataupun dosis ganda secara oral dalam jangka waktu 24 jam. Uji toksisitas akut bertujuan untuk menentukan dosis letal median (LD_{50}), mengetahui organ sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya, serta memberikan informasi mengenai dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian yang lebih lama. Uji toksisitas jangka pendek (sub kronik) dengan pemberian berulang suatu dosis obat pada hewan coba, selama jangka waktu tidak lebih dari 10% masa hidup hewan. Pengujian toksisitas sub kronik dapat memberikan informasi mengenai toksisitas kumulatif suatu zat, organ target, toleransi fisiologi dan metabolik pada pemaparan jangka panjang. Uji toksisitas jangka panjang (kronik) dengan pemberian zat berulang-ulang selama masa hidup hewan uji, atau sekurang-kurangnya sebagian besar dari masa hidupnya. Tujuan pengujian toksisitas kronik adalah untuk menentukan sifat toksisitasnya (10).

Pada uji toksisitas akut perlu dilakukan sekurang-kurangnya satu spesies hewan coba biasanya spesies pengerat yaitu mencit atau tikus. Hewan ini dipilih karena murah, mudah didapat, dan mudah ditangani (10). Pada uji toksisitas akut ditentukan nilai LD_{50} , karena itu perlu diberikan dosis yang menyebabkan kematian lebih dari 50% hewan coba. Jika LD_{50} tidak dapat ditentukan maka diberikan sampai dosis maksimal yang masih

mungkin diberikan pada hewan coba. Volume obat yang diberikan untuk pemberian oral tidak boleh lebih dari 2-3% berat badan hewan coba (3).

Setelah mendapatkan perlakuan mencit diamati secara intensif, cermat selama jangka waktu tertentu, biasanya 7-14 hari, bahkan dapat lebih lama terutama berkaitan dengan pemulihan gejala toksik. Selain mengamati terjadinya kematian hewan coba, hal lain yang perlu diperhatikan adalah timbulnya efek toksik terutama yang terkait dengan fungsi organ tubuh vital antara lain ginjal, hati, dan hemopoetik (10).

Nilai LD₅₀ berguna untuk (10) :

- a. Klasifikasi zat kimia berdasarkan toksisitas relatif.
- b. Pertimbangan akibat bahaya overdosis.
- c. Perencanaan studi toksisitas jangka pendek pada binatang.
- d. Menyediakan informasi mengenai :
 - 1) Mekanisme keracunan.
 - 2) Pengaruh terhadap umur, seks, inang lain, dan faktor lingkungan.
 - 3) Respon yang berbeda-beda di antara spesies dan galur.
- e. Menyediakan informasi tentang reaktivitas populasi hewan-hewan tertentu.
- f. Memberikan informasi yang diperlukan secara menyeluruh dalam percobaan-percobaan obat penyembuh bagi manusia.
- g. Kontrol kualitas.

Penentuan LD₅₀ pada pengujian ini menggunakan metode Weil (20) :

Metode Weil

Rumus : $\text{Log } m = \text{log } D + d (f+1)$

Keterangan :

m : Nilai LD₅₀

D : Dosis terkecil yang digunakan

d : Log dari kelipatan dosis (Log R)

f : Suatu faktor dalam tabel Weil

C. GINJAL

Ginjal adalah organ yang berperan penting dalam mempertahankan kestabilan lingkungan dalam tubuh. Ginjal manusia berbentuk seperti kacang merah yang terletak di kedua sisi kolumna vertebralis. Pada orang dewasa, panjang ginjal sekitar 12 sampai 13 cm, lebar 6 cm, tebal 2,5 cm, dan beratnya sekitar 150 gram. Permukaan anterior dan posterior kutub atas dan bawah serta tepi lateral ginjal berbentuk cembung sedangkan tepi medialnya berbentuk cekung karena adanya hilus (20).

Ginjal terdiri dari tiga daerah besar yaitu, korteks, medulla dan papilla. Korteks ginjal merupakan bagian paling luar ginjal dan terdiri dari glomerulus, tubulus proksimal, tubulus distal, dan kapiler peritubulus. Korteks kira-kira

menerima 90% aliran darah ginjal. Ketika membawa darah, toksikan dialirkan ke daerah korteks dan lebih sering mempengaruhi fungsi korteks dibanding medulla dan papilla. Medulla ginjal merupakan bagian tengah dari ginjal dan terdiri dari lengkung Henle, vasa rekta dan saluran pengumpul. Walaupun medulla hanya menerima 6% dari aliran darah ginjal, mungkin saja dapat meningkatkan konsentrasi dari toksikan ke dalam tubulus. Papilla merupakan bagian yang paling kecil dari ginjal dan menerima aliran darah hanya 1% dari aliran darah ginjal (21).

Unit kerja fungsional ginjal disebut sebagai nefron. Dalam setiap ginjal terdapat sekitar 1 juta nefron. Tiap nefron terdiri dari glomerulus dan tubulus renalis. Tubulus renalis terdiri dari tubulus proksimal, tubulus distal dan lengkung Henle. Glomerulus berfungsi sebagai filter, dan ultrafiltrat bebas protein berkumpul dalam ruang glomerulus kemudian mengalir ke dalam tubulus. Seluruh tubulus proksimal terletak di dalam korteks, dan terjadi proses reabsorpsi isoosmotik lebih kurang 80% air filtrat, seluruh glukosa dan bagian terbesar natrium (87%), klorida dan vitamin C. Dalam tubulus distal pembuatan air kemih menjadi lengkap dengan reabsorpsi fakultatif air, ion-ion natrium, klorida, fosfat dan sulfat, serta sekresi ion amonium dan hidrogen (22).

Salah satu indikator adanya gangguan ginjal dapat ditentukan dengan pengukuran diameter glomerulus dan jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula Bowman. Glomerulus merupakan tempat terjadinya degenerasi sel, inflamasi dan kerusakan kompleks imun pada pemeriksaan laboratorium

hewan dan manusia, selain itu merupakan sasaran terjadinya kerusakan oleh toksikan. Fungsi glomerulus sebagai tempat filtrasi zat-zat termasuk toksikan menyebabkan tingginya aliran darah yang menuju ginjal dan tubulus proksimal sebagai tempat terjadinya absorpsi dan sekresi aktif, menyebabkan kadar toksikan pada tubulus proksimal sering lebih tinggi (10,23).

Fungsi ginjal terdiri atas (24) :

1. Mempertahankan keseimbangan air dalam tubuh.
2. Mengatur jumlah dan konsentrasi sebagian besar ion CES, termasuk Na^+ , Cl^- , K^+ , HCO_3^- , Ca^{++} , Mg^{++} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} dan H^+ .
3. Memelihara volume plasma yang sesuai.
4. Membantu memelihara keseimbangan asam-basa.
5. Memelihara osmolaritas (konsentrasi zat terlarut) berbagai cairan tubuh.
6. Mengekskresi produk sisa dari metabolisme tubuh.
7. Mengekskresi senyawa asing.
8. Mensekresikan eritropoietin.
9. Mensekresikan rennin.
10. Mengubah vitamin D menjadi bentuk aktifnya.

D. HATI

Hati merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh, dengan berat sekitar 1500 g pada orang dewasa. Hati tersusun oleh sel-sel hepatik (hepatosit atau

sel parenkim) yang ditembus oleh kapiler darah disebut sinusoid. Sinusoid mengandung sel fagosit yang disebut sel Kupffer yang berfungsi memfagosit dan menghancurkan partikel padat, bakteri, sel darah mati, dan lain-lain (21).

Hati terbungkus oleh sebuah kapsul fibroelastik yang disebut kapsula Glisson dan secara kasar dipisahkan menjadi lobus kiri dan kanan. Kapsula Glisson mengandung pembuluh darah, pembuluh limfe, dan saraf. Kedua lobus hati tersusun oleh unit-unit yang lebih kecil yang disebut lobulus. Lobulus terdiri dari sel-sel hati, disebut hepatosit. Hepatosit dan jaringan hati mudah mengalami regenerasi, jangka hidup hepatosit melebihi 150 hari (11,25).

Hati menerima suplai darahnya dari dua sumber yang berbeda. Sebagian besar aliran darah hati, sekitar 1000 ml per menit mengalir ke hati melalui vena porta yang kaya akan zat-zat gizi. Sumber lain perdarahan hati adalah arteri hepatika yang mengalirkan darah sekitar 500 ml per menit. Berbeda dengan darah vena, darah arteri mengandung banyak oksigen (25). Cabang arteri hepatika dan vena porta mengalirkan darahnya ke dalam sinusoid dan kemudian mengalirkannya lagi ke vena sentralis (22).

Lobulus hati merupakan suatu unit struktural yang berfungsi untuk mengalirkan darah ke vena sentralis. Oleh karena itu, bagian perifer lobulus yang berdekatan dengan cabang vena porta dan arteri hepatika akan mendapatkan nutrisi dan oksigen yang lebih baik dibandingkan dengan daerah vena sentralis yaitu daerah yang jauh dari aliran darah (11).

Fungsi hati terdiri atas (24) :

1. Pengolahan metabolik kategori nutrien utama (karbohidrat, lemak, protein) setelah diserap dari saluran pencernaan.
2. Detoksifikasi atau degradasi zat-zat sisa dan hormon serta obat dan senyawa asing lainnya.
3. Sintesis berbagai protein plasma, mencakup protein-protein yang penting untuk pembekuan darah serta untuk mengangkut hormon tiroid, steroid dan kolesterol dalam darah.
4. Penyimpanan glikogen, lemak, besi, tembaga, dan vitamin.
5. Pengaktifan vitamin D, yang dilaksanakan oleh hati bersama dengan ginjal.
6. Pengeluaran bakteri dan sel darah merah yang usang.
7. Ekskresi kolesterol dan bilirubin, yang terakhir adalah produk penguraian yang berasal dari destruksi sel darah merah yang sudah usang.

Toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel sel hati yang mengakibatkan berbagai jenis kerusakan hati, yaitu (10) :

- a. Perlemakan Hati (Steatosis)

Perlemakan hati adalah hati yang mengandung berat lipid lebih dari 5%. Mekanisme yang paling umum adalah rusaknya pelepasan trigliserid hati ke plasma, karena trigliserid hati hanya disekresi bila dalam keadaan tergabung dengan lipoprotein membentuk lipoprotein berdensitas sangat rendah (VLDL).

b. Nekrosis Hati

Nekrosis hati adalah kematian hepatosit, dan biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut. Nekrosis hati diikuti dengan pecahnya membran plasma dan terjadi akumulasi trigliserid sebagai butiran lemak dalam sel.

c. Kolestasis

Kolestasis adalah gangguan dari pembentukan, sekresi dan pengaliran dari empedu. Jenis kerusakan hati yang biasanya bersifat akut ini, lebih jarang ditemukan dibandingkan dengan perlemakan hati dan nekrosis.

d. Sirosis

Sirosis adalah kondisi fibrosis dan pembentukan jaringan parut di hati. Sirosis terjadi sebagai respon terhadap cedera sel berulang dan reaksi peradangan yang ditimbulkannya. Penyebab sirosis antara lain adalah infeksi misalnya hepatitis, obstruksi saluran empedu yang menyebabkan penimbunan empedu.

E. DARAH

Darah terdiri dari tiga jenis sel yaitu eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan keping darah (trombosit) yang terendam dalam plasma darah cair. Plasma terdiri dari air 90%, dan 10% berupa elektrolit, gas terlarut, berbagai produk sisa metabolisme dan zat-zat gizi misalnya gula, asam

amino, lemak, kolesterol, dan vitamin. Sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit dibentuk di hati dan limpa pada janin, dan di sumsum tulang setelah lahir (25).

Darah beredar dalam sistem vaskular, mengangkut oksigen dari paru dan nutrien dari saluran cerna ke jaringan lain di seluruh tubuh. Darah juga berperan penting dalam fungsi integratif kelenjar endokrin dengan membawa hormon dari asalnya ke sel-sel sasaran. Volume darah manusia lebih kurang 5 liter yang merupakan 7% dari berat badan. Eritrosit sendiri mencakup 45% dari volume ini, leukosit dan trombosit 1%, sisanya adalah plasma darah, yaitu cairan kuning bening yang merupakan matriks ekstrasel jaringan ini (11).

1. Eritrosit

Eritrosit adalah korpuskel-korpuskel kecil yang memberi warna merah pada darah (11). Eritrosit mengandung protein hemoglobin yang mengangkut sebagian besar oksigen yang diambil dari paru ke sel-sel di seluruh tubuh. Sel darah matang dikeluarkan dari sumsum tulang dan hidup sekitar 120 hari untuk kemudian mengalami disintegrasi dan mati. Sel-sel darah yang mati diganti oleh sel-sel baru yang dihasilkan oleh sumsum tulang (25).

Jumlah normal eritrosit kira-kira 5,4 juta per mm^3 darah pada pria dan 4,8 juta per mm^3 pada wanita (11). Sedangkan jumlah normal eritrosit pada menciit adalah 7-12 juta per mm^3 (26). Eritrosit berupa cakram bikonkaf berdiameter sekitar 7,5 μm , ketebalan maksimum 1,9 μm , dengan luas

permukaan kira-kira $140 \mu\text{m}^2$. Bentuk eritrosit yang bikonkaf sangat sesuai dengan fungsinya karena dengan bentuk ini eritrosit memberikan luas permukaan 20-30% lebih besar dibanding isinya daripada bila berbentuk bulat (11). Peningkatan jumlah sel darah merah disebut polisitemia atau eritrositosis, sedangkan penurunan jumlah sel darah merah disebut anemia (27).

2. Leukosit

Leukosit dibentuk di sumsum tulang. Berdasarkan jenis granula dalam sitoplasma dan bentuk intinya, sel darah putih digolongkan menjadi 2 golongan yaitu granulosit (leukosit polimorfonuklear) yang terdiri dari neutrofil, eosinofil, basofil, dan agranulosit (leukosit mononuklear) yang terdiri atas limfosit dan monosit (28). Peran leukosit adalah untuk mengenali dan melawan mikroorganisme pada reaksi imun dan untuk membantu proses peradangan dan penyembuhan (25).

Jumlah leukosit dalam sirkulasi berkisar antara 5000 sampai 9000 per mm^3 darah, tetapi jumlah ini bervariasi sesuai umur, bahkan pada waktu yang berbeda sepanjang hari. Jumlah normal leukosit pada mencit adalah 3000 sampai 12.000 per mm^3 darah (26). Jumlah relatif berbagai jenis leukosit disebut hitung jenis leukosit, biasanya cukup konstan neutrofil 55-60%; eosinofil 1-3%; basofil 0-0,7%; limfosit 25-33%; dan monosit 3-7%. Hitung jenis sel seringkali membantu diagnosis penyakit (11).

3. Trombosit

Trombosit adalah fragmen sel mirip cakram, tidak berinti dengan diameter 2-4 μm . Trombosit berasal dari fragmentasi megakariosit yang terdapat dalam sumsum tulang. Nilai normal trombosit berkisar 200.000 sampai 400.000 per mm^3 darah. Jumlah normal trombosit pada mencit adalah 1 juta-1,6 juta per mm^3 darah (26). Trombosit terus dibentuk dan dilepaskan ke dalam darah dan bertahan hidup 9-10 hari (27).

Trombosit berperan dalam proses hemostasis yaitu berfungsi untuk pembekuan darah pada tempat cedera pembuluh darah, dan berfungsi mencegah kehilangan darah yang berlebihan (11).

Penurunan jumlah trombosit atau trombositopenia lebih sering dijumpai daripada gangguan fungsi trombosit. Sebagian besar gangguan fungsi trombosit terjadi sebagai bagian dari penyakit lain. Trombositopenia dapat terjadi akibat penurunan sintesis trombosit atau kehilangan trombosit berlebihan (28).

4. Hemoglobin

Hemoglobin terdiri dari bahan yang mengandung besi yang disebut heme dan protein globulin. Terdapat sekitar 300 molekul hemoglobin dalam setiap sel darah merah (29). Hemoglobin protein dengan berat molekul 68.000, yang terdiri atas empat rantai polipeptida; dua rantai- α identik dan dua rantai- β identik, dengan gugus heme yang mengandung besi terikat pada setiap rantai tetramer itu (11). Setiap molekul hemoglobin memiliki tempat

pengikatan untuk oksigen. Hemoglobin yang mengikat oksigen disebut oksihemoglobin (25).

Hemoglobin merupakan suatu molekul yang besar dan turut menentukan berat darah. Kadar hemoglobin dapat diperkirakan dengan menentukan berat jenis darah (28). Pada orang dewasa normal nilai hemoglobin adalah 13,5-18,0 g/dL untuk pria; 12,0-16,0 g/dL untuk wanita (27). Jumlah normal hemoglobin pada menci adalah 13,0-17,0 g/dL darah (26).



BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi dan Laboratorium Biologi Perkembangan Departemen Biologi FMIPA UI Depok selama lebih kurang 3 bulan dari bulan September 2008 sampai bulan November 2008.

B. ALAT

Alat yang digunakan adalah sonde lambung, spuit (Terumo), mikrohematokrit (Marienfield), mikrotube, timbangan analitik (Metler Toledo), timbangan hewan (Metler Toledo), alat-alat gelas, alat bedah, lumpang dan alu, gelas ukur, parafin stretcher, haemometer Sahli-Erka (Marienfield), hemositometer Improved Neubauer (Marienfield), mikroskop cahaya (Novex Holland), mikrotom, mikroprojektor.

C. BAHAN

1. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan dan betina galur DDY (*deutsche yoken*) berumur lebih kurang dua bulan dengan berat badan 20 sampai 30 g masing-masing 25 ekor dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

2. Bahan uji

Obat herbal "FAD" yang mengandung campuran ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum* Nees) 112 mg, ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn.) 100 mg, ekstrak buah pare (*Momordica charantia* Linn.) 150 mg, kromium 300 µg yang diperoleh dari PT. Darya Varia Laboratoria.

3. Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah asam klorida 0.1 N, Heparin, larutan Hayem, larutan Turk, larutan Rees-Ecker, eter, aquadest, larutan xilol, natrium klorida, alkohol absolut, alkohol 70%, alkohol 96%, benzil benzoat, benzol dan paraffin, albumin Mayer's, paraffin stretcher, hematoksilin-eosin.

D. RENCANA KERJA

1. Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Percobaan menggunakan sepuluh ekor mencit dalam tiap kelompok yang terdiri dari lima ekor mencit jantan dan lima ekor mencit betina. Dalam percobaan digunakan 25 ekor mencit jantan dan 25 ekor mencit betina yang dibagi secara acak dalam lima kelompok perlakuan. Kelompok I, II, III dan IV adalah kelompok perlakuan masing-masing dengan dosis yang berbeda menggunakan kelipatan dosis sebesar 2,5.

2. Persiapan Hewan Uji

Sebanyak 25 ekor mencit jantan dan 25 ekor mencit betina diaklimatisasi selama 14 hari dalam kandang karantina laboratorium Farmakologi FMIPA UI agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Mencit yang diikutkan dalam percobaan adalah mencit yang sehat dengan tanda-tanda rambut tidak berdiri, tingkah laku normal, serta dilakukan penimbangan berat badan mencit setiap hari. Mencit yang sakit dan tidak memenuhi standar berat badan tidak diikutkan dalam pengujian.

3. Penentuan Dosis

Berdasarkan hasil orientasi, dosis tertinggi yang dapat dikeluarkan dari sonde adalah 12.708 mg/kg bb. Dosis ini selanjutnya menjadi dosis IV. Pada penelitian ini akan digunakan 4 dosis, untuk dosis 3, 2 dan 1 dibuat dengan kelipatan 2,5 kali dari dosis 4. Maka dosis yang digunakan berturut-turut adalah 5083,2 mg/kg bb (dosis 3), 2033,3 mg/kg bb (dosis 2) dan 813,3 mg/kg bb (dosis 1).

4. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan menimbang obat herbal "FAD" sebanyak 10,51 g kemudian disuspensikan dengan larutan CMC 0,5%. Larutan CMC dibuat dengan menimbang 50 mg CMC yang kemudian dikembangkan dan disuspensikan menggunakan 10 mL aquadest. Dosis 3, 2 dan 1 dibuat dengan cara pengenceran 2,5 kali lipat dari dosis 4. Kelompok kontrol diberikan larutan CMC 0,5%. Larutan uji yang telah siap kemudian diberikan peroral ke hewan uji dengan volume pemberian yang telah disesuaikan dengan berat badan mencit.

5. Pembuatan larutan dan pereaksi :

a. Larutan Hayem

Sejumlah 5 g natrium sulfat, 1 g natrium klorida, dan 0,5 g merkuri klorida dilarutkan dengan aquadest hingga volume 200 mL, kemudian disaring (29).

b. Larutan Rees-Ecker

Sejumlah 3,8 g natrium sitrat, 30 mg brilliant kresil biru, dan 2 mL larutan formaldehid 40% dilarutkan dalam aquadest hingga volume 100 mL, kemudian disaring (29).

c. Larutan Turk

Larutan gentian violet 1% dalam air 1 mL, asam asetat glasial 1 mL, air suling hingga 100 mL, kemudian disaring (29).

6. Pelaksanaan Percobaan

Dalam percobaan ini, 25 ekor mencit jantan dan 25 ekor mencit betina dibagi secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina.

Kelompok tersebut adalah sebagai berikut :

1. Kelompok I terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina, diberi dosis 813,3 mg/kg bb.

2. Kelompok II terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina, diberi dosis 2033,3 mg/kg bb.
3. Kelompok III terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina, diberi dosis 5083,2 mg/kg bb.
4. Kelompok IV terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina, diberi dosis 12.708 mg/kg bb.
5. Kelompok V terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina yang merupakan kelompok kontrol (hanya diberi larutan CMC 0,5%.

A. Perlakuan

Pemberian larutan uji secara oral menggunakan sonde lambung dalam dosis tunggal dan hanya dilakukan pada hari ke-1. Dosis yang diberikan disesuaikan dengan berat badan mencit. Cara perlakuan terhadap hewan uji dapat dijelaskan sebagai berikut:

- 1) Pada hari ke-0, hewan uji ditimbang dan dilakukan penghitungan jumlah eritrosit, leukosit, trombosit dan penentuan kadar hemoglobin darah.
- 2) Pada hari ke-1, hewan uji ditimbang sebelum diberi larutan uji secara oral. Sebelum diberi perlakuan, hewan uji dipuaskan terlebih dahulu selama 12 jam, namun tetap diberi minum.

3) Hewan uji diperlakukan sesuai dengan kelompoknya, selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap gejala-gejala dan tanda-tanda toksisitas yang mungkin muncul selama tiga jam.

4) Penentuan LD₅₀ dilakukan setelah 24 jam dengan menggunakan metode Weil.

5) Penghitungan jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, dan hemoglobin darah serta pemeriksaan ginjal dan hati dilakukan setelah 24 jam, serta setelah 14 hari pemberian dosis.

B. Pengambilan sampel darah melalui mata

Pengambilan darah mencit dilakukan melalui sinus orbital mata. Sebelum pengambilan sampel darah, mencit dianestesi terlebih dahulu menggunakan eter, kemudian dengan mikrohematokrit mata mencit ditusuk melalui sinus orbital (pada sudut bola mata) dengan gerakan masuk sambil diputar dan ditekan. Tampung darah yang keluar dengan mikrotube yang telah dibasahi oleh heparin untuk mencegah terjadinya koagulasi (30).

C. Pengambilan organ ginjal dan hati

Pengambilan organ dilakukan melalui cara pembedahan. Sebelum pembedahan mencit dibius dengan eter, kemudian diletakkan

telentang diatas papan bedah. Keempat kakinya diikat, bagian dada dan perut dibersihkan dengan etanol 70% kemudian bedah dengan pisau bedah, ambil organ ginjal dan hati, masukkan organ ke dalam larutan natrium klorida 0,9% untuk menghilangkan darah yang menempel, kemudian lakukan prosedur pembuatan preparat histologis (31).

D. Menghitung jumlah sel darah merah

Darah diencerkan dalam pipet eritrosit kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer*. Jumlah sel darah merah dihitung dalam volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi. Sebagai larutan pengencer yang digunakan adalah larutan Hayem (29,32). Tahapan yang dilakukan untuk menghitung jumlah sel darah merah adalah :

1. Darah dihisap dari mikrotube dengan pipet sel darah merah sampai tepat garis 0,5.
2. Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan hayem dan dihisap sampai garis tanda 101, jangan sampai ada gelembung udara.
3. Pipet diangkat dari cairan kemudian dikocok selama 15 sampai 30 detik, tiga atau empat tetes cairan yang ada dalam batang kapiler pipet dibuang dan menyentuhkan ujung pipet dengan sudut 30°

pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup.

4. Kamar hitung dibiarkan selama 2 sampai 3 menit agar sel darah merah mengendap.
5. Sel darah merah pada lima bidang yang tersusun dari 16 bidang kecil dihitung dengan bantuan mikroskop dengan pembesaran 400 kali, sampai garis-garis bagi dalam bidang tampak jelas.
6. Sel yang menyinggung batas sebelah kiri atau garis atas harus dihitung, sebaliknya sel-sel yang menyinggung batas sebelah kanan atau bawah tidak dihitung.
7. Perhitungan

Pengenceran dalam pipet sel darah merah adalah 200 kali. Luas tiap bidang kecil $1/400 \text{ mm}^2$, tinggi kamar hitung $1/10 \text{ mm}$, sedangkan sel darah merah dihitung 5 x 16 bidang kecil, yang luasnya $1/5 \text{ mm}^2$. Faktor konversi untuk mendapatkan jumlah sel darah merah per μl darah menjadi $5 \times 10 \times 200 = 10.000$.

E. Menghitung jumlah sel darah putih

Darah diencerkan dalam pipet leukosit kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer*. Jumlah sel darah putih dihitung dalam volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi, jumlah sel darah putih per mm^3 darah dapat dihitung. Sebagai larutan

pengencer digunakan larutan Turk (29,32). Tahapan yang dilakukan untuk menghitung jumlah sel darah putih adalah :

1. Darah dihisap dari mikrotube dengan pipet sel darah putih sampai tepat garis 0,5.
2. Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan Turk dan dihisap sampai garis tanda 11, jangan sampai ada gelembung udara.
3. Pipet diangkat dari cairan kemudian dikocok selama 15 sampai 30 detik, tiga atau empat tetes cairan yang ada dalam batang kapiler, pipet dibuang dan menyentuhkan ujung pipet dengan sudut 30° pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup.
4. Kamar hitung dibiarkan selama 2 sampai 3 menit agar sel darah putih mengendap.
5. Sel darah putih terdapat pada empat bidang besar yang tersusun dari 16 bidang kecil dihitung dengan bantuan mikroskop dengan pembesaran 100 kali, sampai garis-garis bagi dalam bidang tampak jelas.
6. Sel yang menyinggung batas sebelah kiri atau garis atas harus dihitung, sebaliknya sel-sel yang menyinggung batas sebelah kanan atau bawah tidak dihitung.
7. Perhitungan

Pengenceran yang terjadi dalam pipet sel darah putih adalah 20 kali. Sel darah putih dihitung pada bidang seluas 4 mm^2 dengan

tinggi 0,1 mm sehingga faktor konversinya adalah 50 kali. Perhitungan menggunakan rumus seperti pada perhitungan faktor konversi untuk sel darah merah, sehingga jumlah sel darah putih per μl darah menjadi $4 \times 0,1 \times 20 = 50$.

F. Menghitung jumlah trombosit

Darah diencerkan dalam pipet eritrosit kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer*. Jumlah trombosit dihitung dalam volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi. Sebagai larutan pengencer yang digunakan adalah larutan Rees-Ecker (29,32). Tahapan yang dilakukan untuk menghitung jumlah trombosit adalah :

1. Darah dihisap dari mikrotube dengan pipet sel darah merah tepat garis 0,5.
2. Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan Rees-Ecker dan dihisap sampai garis tanda 101, jangan sampai ada gelembung udara.
3. Pipet diangkat dari cairan kemudian dikocok selama 15 sampai 30 detik, tiga atau empat tetes cairan yang ada dalam batang kapiler pipet dibuang dan menyentuhkan ujung pipet dengan sudut 30° pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup.

4. Kamar hitung dibiarkan selama 2 sampai 3 menit agar trombosit mengendap.
5. Trombosit terdapat pada bidang besar yang letaknya ditengah-tengah dihitung dengan bantuan mikroskop dengan pembesaran 400 kali, sampai garis-garis dalam bidang tampak jelas.
6. Sel yang menyinggung batas sebelah kiri atau garis atas harus dihitung sebaliknya sel-sel yang menyinggung batas sebelah kanan atau bawah tidak dihitung.
7. Perhitungan
Pengenceran dalam pipet eritrosit adalah 200 kali. Trombosit dihitung pada bidang seluas 1 mm^2 dengan tinggi 0,1 mm sehingga faktor konversinya adalah 2000 kali. Perhitungan menggunakan rumus yang sama pada perhitungan faktor konversi untuk sel darah merah, sehingga jumlah trombosit per μl darah menjadi $1 \times 0,1 \times 200 = 2000$.

G. Pengukuran kadar hemoglobin (Hb) dengan metode Sahli

Prinsipnya adalah hemoglobin diubah menjadi hematin asam, kemudian warna yang terjadi dibandingkan secara visual dengan warna standar pada hemometer (29,32). Tahapan yang dapat dilakukan untuk mengukur kadar hemoglobin adalah :

1. Sejumlah lima tetes asam klorida 0,1 N dimasukkan ke dalam tabung hemometer.
2. Sampel darah dihisap dengan pipet sampai tepat garis 0,02 mL. Darah yang masih melekat pada ujung pipet dibersihkan dengan menghisap asam klorida ke dalam pipet dua atau tiga kali sampai garis tanda 0,02. Isi tabung diaduk supaya darah dan asam bereaksi hingga berwarna coklat tua.
3. Tambahkan air setetes demi setetes, tiap kali diaduk dengan batang pengaduk sampai warna yang terjadi harus sama dengan warna standar.
4. Kadar hemoglobin dibaca dalam g/100 mL.

H. Prosedur pembuatan preparat histologi

1. Pengambilan jaringan segar

Pengambilan organ ginjal dan hati diperoleh dengan cara pembedahan. Hati dan ginjal yang telah diambil dibersihkan dengan natrium klorida 0,9% (31).

2. Fiksasi

Jaringan hati dan ginjal difiksasi dengan larutan Bouin selama 24 jam. Setelah fiksasi selesai, sisa-sisa fiksasi dapat dihilangkan dengan perendaman dalam larutan alkohol 70% (31).

3. Dehidrasi

Jaringan hati dan ginjal direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat: alkohol 70% selama 48 jam, alkohol 96% sebanyak dua kali masing-masing selama 60 menit, alkohol absolut sebanyak dua kali masing-masing selama 1 jam, benzil benzoat selama lebih dari 24 jam, dan dalam benzol sebanyak dua kali masing-masing selama 15 menit (31).

4. Infiltrasi

Jaringan hati dan ginjal yang telah didehidrasi direndam dalam parafin cair melalui dua tahap: parafin I selama 1 jam, parafin II selama 1 jam di dalam inkubator pada suhu 60⁰ C (31).

5. Penanaman

Jaringan hati dan ginjal yang telah diinfiltrasi dimasukkan ke dalam cetakan berupa kotak-kotak kertas yang berisi parafin cair hingga terendam, kemudian dibiarkan pada suhu kamar hingga dingin dan membeku. Setelah parafin menjadi keras, maka blok parafin yang berisi jaringan dapat dilepaskan dari kotak kertas. Kelebihan parafin di sekitar jaringan dipotong dan dirapikan lalu dilekatkan pada kayu pemegang dengan pemanasan (31).

6. Penyayatan

Sebelum dilakukan penyayatan, kayu pemegang dipasang pada mikrotom dan pisau mikrotom diatur agar mendapat sayatan berbentuk pita. Tebal sayatan adalah 7 µm (31).

7. Penempelan pada gelas obyek

Hasil sayatan yang baik diletakkan pada gelas obyek yang telah diolesi sedikit albumin Mayer's dan ditetesi air. Selanjutnya gelas obyek diletakkan di atas Parafin Stretcher dengan suhu 30-40⁰C. Setelah sayatan pada obyek mengembang sempurna, sisa-sisa air pada obyek diserap dengan kertas tisu (31).

8. Melarutkan parafin

Parafin yang melekat di dalam jaringan dan seputar sayatan dihilangkan dengan cara merendam gelas objek pada larutan xilol selama lebih kurang 6 menit (31).

9. Hidrasi

Gelas objek yang sudah dibersihkan dari parafin dimasukkan dalam larutan alkohol dengan konsentrasi menurun : alkohol absolut, alkohol 96%, dan alkohol 70% masing-masing selama 1 menit (31).

10. Pewarnaan

Gelas objek yang telah dihidrasi direndam dalam larutan hematoksilin selama 4 menit, kemudian dicuci dalam bak air dengan air mengalir hingga bagian gelas objek di luar jaringan bersih dari zat warna. Bila warna jaringan terlalu ungu, maka gelas objek dicelupkan ke dalam larutan asam klorida 1% selama beberapa detik, selanjutnya direndam ke dalam larutan eosin selama 4 menit (31).

11. Dehidrasi

Gelas objek yang telah diwarnai direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat: alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 96% sebanyak 2 kali selama 3 menit, alkohol absolut selama 3 menit, campuran alkohol : xilol (1:1) selama 5 menit (31).

12. Penjernihan

Gelas objek yang telah didehidrasi direndam dalam larutan xilol sebanyak tiga kali, masing-masing selama 2 menit (31).

13. Penutupan

Sebelum xilol mengering, setetes entellan diteteskan di atas preparat kemudian ditutup perlahan-lahan dengan kaca penutup dan dijaga agar tidak ada gelembung udara (31).

14. Pengamatan

Pengamatan terhadap histologi hati dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif terhadap vena sentralis hati. Vena sentralis yang berukuran elips diukur bagian terpanjang dan terlebar kemudian dibagi dua dengan menggunakan mikroyektor yang sebelumnya telah dikalibrasi, jumlah yang diukur sebanyak 15 vena sentralis yang dipilih secara acak dari 10 irisan hati setiap preparat. Kemudian dari 15 diameter vena sentralis yang telah diukur, dihitung nilai rata-ratanya. Sedangkan pengukuran secara kualitatif menggunakan mikroskop medan terang dengan perbesaran 400 kali. Penilaian dilakukan dengan melihat kerusakan yang terjadi pada tiap lobulus.

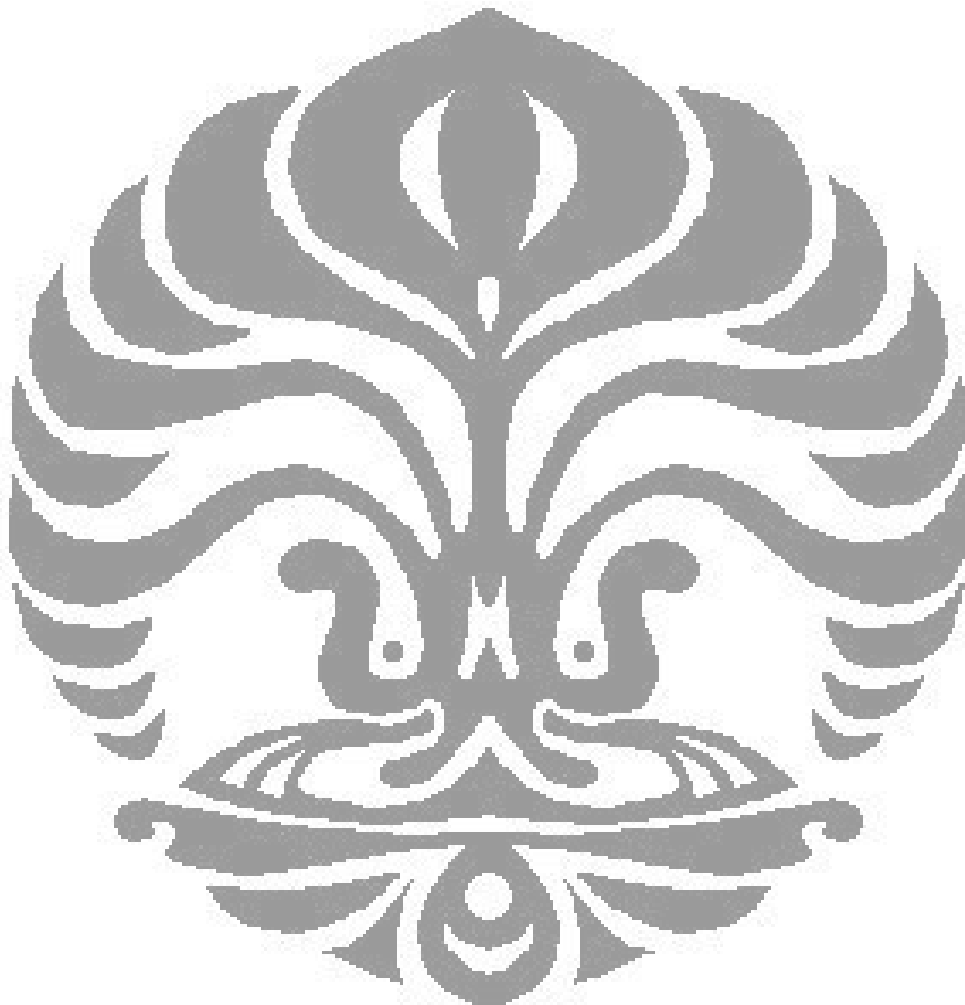
Persentase kerusakan dibedakan dalam tiga tingkatan yaitu 0% (tanpa kerusakan), 20-40% (degenerasi sedang), dan lebih dari 40% (nekrosis berat).

Pengamatan terhadap histologi ginjal dengan membandingkan preparat histologis ginjal antara kelompok kontrol dengan kelompok uji menggunakan mikroyektor yang dipasang pada lensa mikroskop cahaya perbesaran 400 kali. Pengukuran diameter kapsula Bowman dan jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula Bowman ditentukan dengan mengukur diameter terpanjang kapsula Bowman. Jumlah diameter kapsula Bowman yang diukur sebanyak 20 buah yang dipilih secara acak dari 10 irisan ginjal dari tiap preparat. Kemudian dari 20 diameter kapsula Bowman yang telah diukur, dihitung nilai rata-ratanya. Untuk pengukuran jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula Bowman yang dihitung adalah jarak terjauh antara glomerulus dengan kapsula Bowman, diukur dari bagian tepi glomerulus sampai bagian tepi kapsula Bowman. Hasil pengukuran dari 20 kali pengukuran dalam preparat yang sama kemudian dihitung nilai rata-ratanya.

I. Pengolahan data

Pengolahan data diolah secara statistik menggunakan uji distribusi normal untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal

atau tidak dengan metode *Saphiro-Wilk*, uji kesamaan varian (homogenitas) untuk mengetahui apakah beberapa varian populasi sama atau tidak dengan menggunakan metode *Levene* kemudian dilanjutkan dengan analisis varians satu arah (ANOVA) (33).



BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PENELITIAN

1. Uji Toksisitas Akut

Hasil yang diperoleh dari uji toksisitas akut obat herbal "FAD" sampai dengan dosis 12.708 mg/kg bb tidak menyebabkan kematian mencit jantan dan mencit betina.

Tabel 1
Data hasil uji toksisitas akut obat herbal "FAD"

Kelompok	dosis	N	Jumlah kematian hewan uji	
			Jantan	Betina
1	813,3 mg/kg bb mencit	5	0	0
2	2033,3 mg/kg bb mencit	5	0	0
3	5083,2 mg/kg bb mencit	5	0	0
4	12,708 mg/kg bb mencit	5	0	0
Kontrol	Larutan CMC 0,5%	5	0	0

2. Penghitungan Jumlah Eritrosit

Jumlah eritrosit rata-rata mencit putih sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan tertera pada tabel dibawah ini.

Tabel 2

Jumlah eritrosit rata-rata mencit putih pada hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Jenis Kelamin	Kelompok	Jumlah eritrosit rata-rata \pm SD ($10^6/\text{mm}^3$)		
		Hari ke-0	Setelah 24 Jam	Hari ke-14
Jantan	I	8,48 \pm 1,827	5,582 \pm 1,083	7,208 \pm 0,959
	II	7,83 \pm 1,001	7,834 \pm 1,001	7,934 \pm 1,745
	III	8,452 \pm 0,683	6,188 \pm 0,889	9,200 \pm 0,822
	IV	8,036 \pm 1,691	8,068 \pm 1,133	7,662 \pm 2,254
	V	7,194 \pm 1,019	8,232 \pm 0,490	8,690 \pm 0,498
Betina	I	8,250 \pm 0,386	8,198 \pm 2,464	8,428 \pm 1,466
	II	7,794 \pm 1,238	7,568 \pm 1,768	7,860 \pm 2,337
	III	7,950 \pm 1,507	7,628 \pm 1,495	7,342 \pm 1,622
	IV	9,188 \pm 1,272	7,010 \pm 0,924	9,202 \pm 0,933
	V	8,710 \pm 1,533	9,062 \pm 1,084	8,734 \pm 0,504

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 11 dan 12, Gambar 6 dan 7. Hasil uji analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan signifikansi $\alpha = 0,05$ terhadap jumlah eritrosit rata-rata mencit jantan dan mencit betina pada hari ke-0, 24 jam setelah perlakuan dan 14 hari setelah perlakuan menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

3. Penghitungan Jumlah Leukosit

Jumlah leukosit rata-rata mencit putih sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan tertera pada tabel dibawah ini.

Tabel 3

Jumlah leukosit rata-rata mencit putih pada hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Jenis Kelamin	Kelompok	Jumlah leukosit rata-rata \pm SD ($10^3/\text{mm}^3$)		
		Hari Ke-0	Setelah 24 Jam	Hari Ke-14
Jantan	I	13,060 \pm 4,243	10,940 \pm 1,671	9,720 \pm 2,459
	II	11,140 \pm 0,993	7,120 \pm 1,072	9,710 \pm 3,734
	III	11,530 \pm 2,996	7,060 \pm 0,962	9,060 \pm 2,600
	IV	11,440 \pm 3,476	7,910 \pm 1,828	8,510 \pm 1,220
	V	11,000 \pm 2,951	11,480 \pm 0,702	11,02 \pm 3,795
Betina	I	11,990 \pm 3,374	8,400 \pm 1,932	11,670 \pm 2,803
	II	7,070 \pm 1,602	7,850 \pm 1,961	11,730 \pm 4,731
	III	6,810 \pm 0,874	8,560 \pm 2,782	15,350 \pm 4,035
	IV	8,980 \pm 2,714	8,110 \pm 1,016	13,950 \pm 2,841
	V	9,930 \pm 2,463	7,090 \pm 0,855	9,590 \pm 1,667

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 13 dan 14, Gambar 8 dan 9. Hasil uji analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan signifikansi $\alpha = 0,05$ terhadap jumlah leukosit rata-rata mencit jantan dan mencit betina pada hari ke-0, 24 jam setelah perlakuan dan 14 hari setelah perlakuan menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

4. Penghitungan Jumlah Trombosit

Jumlah trombosit rata-rata mencit putih sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan tertera pada tabel dibawah ini.

Tabel 4
Jumlah trombosit rata-rata mencit putih pada hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Jenis Kelamin	Kelompok	Jumlah trombosit rata-rata \pm SD ($10^5/\text{mm}^3$)		
		Hari Ke-0	Setelah 24 Jam	Hari Ke-14
Jantan	I	2,224 \pm 1,126	2,792 \pm 1,103	3,684 \pm 0,845
	II	3,70 \pm 1,055	3,760 \pm 1,003	4,144 \pm 0,701
	III	5,236 \pm 1,356	7,144 \pm 0,762	4,824 \pm 1,297
	IV	3,080 \pm 0,949	5,096 \pm 1,264	5,332 \pm 1,598
	V	3,732 \pm 1,369	7,476 \pm 1,373	4,768 \pm 1,124
Betina	I	4,408 \pm 0,603	3,992 \pm 0,856	4,088 \pm 1,098
	II	2,992 \pm 0,983	3,736 \pm 0,792	4,900 \pm 0,903
	III	4,504 \pm 1,876	2,992 \pm 1,306	2,960 \pm 0,875
	IV	4,112 \pm 0,617	3,308 \pm 1,595	4,380 \pm 1,228
	V	4,436 \pm 1,323	3,708 \pm 1,060	4,220 \pm 0,802

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 15 dan 16, Gambar 10 dan 11. Hasil uji analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan signifikansi $\alpha = 0,05$ terhadap jumlah trombosit rata-rata mencit jantan dan mencit betina pada hari ke-0, 24 jam setelah perlakuan dan 14 hari perlakuan menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

5. Penghitungan Jumlah Hemoglobin

Jumlah hemoglobin rata-rata mencit putih sebelum perlakuan (hari ke-0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan tertera pada tabel dibawah ini.

Tabel 5

Jumlah hemoglobin rata-rata mencit putih pada hari ke-0 (sebelum perlakuan), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Jenis Kelamin	Kelompok	Jumlah hemoglobin rata-rata \pm SD (g/100 mL)		
		Hari Ke-0	Setelah 24 Jam	Hari Ke-14
Jantan	I	13,920 \pm 1,578	11,800 \pm 1,183	11,080 \pm 1,300
	II	12,080 \pm 2,017	11,080 \pm 1,300	11,040 \pm 2,016
	III	12,760 \pm 2,174	9,720 \pm 1,205	9,560 \pm 1,904
	IV	10,640 \pm 1,033	11,160 \pm 2,021	11,160 \pm 1,936
	V	11,560 \pm 3,160	11,880 \pm 2,876	10,320 \pm 2,022
Betina	I	12,000 \pm 1,876	9,560 \pm 0,899	11,000 \pm 1,049
	II	12,280 \pm 1,753	11,720 \pm 1,006	9,560 \pm 1,705
	III	11,520 \pm 1,712	10,720 \pm 1055	11,440 \pm 1,920
	IV	11,560 \pm 1,873	10,120 \pm 1,222	11,560 \pm 1,899
	V	12,360 \pm 0,888	11,840 \pm 1,652	10,240 \pm 1,330

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 17 dan 18, Gambar 12 dan 13. Hasil uji analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan signifikansi $\alpha = 0,05$ terhadap jumlah hemoglobin rata-rata mencit jantan dan mencit betina pada hari ke-0, 24 jam setelah perlakuan dan 14 hari setelah perlakuan menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

6. Pengukuran rata-rata diameter Kapsula Bowman

Ukuran diameter kapsula bowman rata-rata setelah masa perlakuan 14 hari pada mencit putih tertera pada tabel dibawah ini.

Tabel 6

Diameter kapsula bowman rata-rata

Jenis Kelamin	Diameter kapsula bowman rata-rata \pm SD (μm)
Jantan	87,813 \pm 3,414
	88,000 \pm 4,737
	87,838 \pm 4,094
	85,766 \pm 3,358
	89,766 \pm 4,633
Betina	85,548 \pm 4,908
	85,764 \pm 1,207
	89,016 \pm 5,860
	84,800 \pm 2,681
	86,464 \pm 4,384

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 19 dan 20, Gambar 14 dan 15. Hasil uji analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan signifikansi $\alpha = 0,05$ terhadap jumlah diameter kapsula Bowman mencit jantan dan mencit betina rata-rata 14 hari setelah perlakuan menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

7. Jarak ruang antara glomerulus dan kapsula bowman

Ukuran jarak ruang anatar glomerulus dengan kapsula bowman rata-rata setelah masa perlakuan 14 hari pada mencit putih tertera pada tabel dibawah ini.

Tabel 7

Jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula bowman rata-rata

Jenis Kelamin	Jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula bowman rata-rata ± SD (µm)
Jantan	12,814 ± 2,192
	12,248 ± 1,382
	12,112 ± 2,519
	12,480 ± 0,746
Betina	12,830 ± 0,703
	12,050 ± 0,948
	12,410 ± 0,714
	12,775 ± 2,065
	10,712 ± 0,821
	12,282 ± 3,236

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 21 dan 22, Gambar 16 dan 17. Hasil uji analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan signifikansi $\alpha = 0,05$ terhadap jumlah jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula Bowman mencit jantan dan mencit betina rata-rata 14 hari setelah perlakuan menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

8. Pengukuran diameter vena sentralis (kuantitatif)

Ukuran diameter vena sentralis rata-rata setelah masa perlakuan 14 hari pada mencit putih tertera pada tabel dibawah ini.

Tabel 8

Diameter vena sentralis rata-rata	
Jenis Kelamin	Diameter vena sentralis rata-rata \pm SD (μm)
Jantan	39,536 \pm 2,648
	39,108 \pm 2,940
	38,910 \pm 2,693
Betina	38,912 \pm 2,150
	39,876 \pm 1,907
	38,518 \pm 1,092
	40,358 \pm 4,596
	40,356 \pm 1,033
	38,194 \pm 1,711
	39,180 \pm 1,135

a dapat dilihat pada Tabel 23 dan 24, Gambar 18 dan 19. Hasil uji analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan signifikansi $\alpha = 0,05$ terhadap jumlah rata-rata diameter vena sentralis hati 14 hari setelah perlakuan pada mencit jantan dan mencit betina menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

9. Persentase kerusakan sel hati (kualitatif)

Persentase rata-rata kerusakan sel hati mencit jantan dan mencit betina setelah 14 hari perlakuan pada tingkat kerusakan 0% adalah 100%, pada tingkat kerusakan 20-40% adalah 0% dan pada tingkat kerusakan >40% (nekrosis berat) adalah 0%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 25 dan 26.

Hasil pemeriksaan histologi hati terhadap persentase kerusakan sel hati pada mencit jantan dan betina tidak menunjukkan adanya kerusakan pada sel hati.

B. PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut obat herbal "FAD" terhadap mencit putih. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Setiap kelompok terdiri dari lima hewan coba dengan dua jenis kelamin yaitu mencit jantan dan mencit betina. Pengelompokan hewan coba dilakukan dengan cara pengundian dan dilakukan sehari sebelum perlakuan yang bertujuan untuk mendapatkan keseragaman hewan uji dalam tiap kelompok.

Hewan uji yang digunakan pada percobaan ini adalah mencit putih galur DDY (*deutsche yoken*) yang berjumlah 50 ekor, berjenis kelamin jantan dan betina, serta berumur antara 2-3 bulan dengan berat 20-30 g. Hewan ini dipilih karena mudah dipelihara, harganya murah dan banyak data toksikologi mengenai hewan ini.

Pemeriksaan hematologi dilakukan pada hari ke-0 (sebelum perlakuan), 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan. Pengambilan darah dilakukan melalui mata bertujuan untuk mengurangi resiko terjadinya hemolisis, selain itu darah yang diperoleh lebih banyak dan waktu yang dibutuhkan lebih cepat. Darah yang diperoleh ditampung dalam mikrohematokrit yang telah diberi heparin untuk mencegah pembekuan darah dan langsung dilakukan pemeriksaan hematologi.

Setelah pemberian larutan uji, dilakukan pengamatan selama 3 jam dan tidak ada efek toksik yang teramati. Mencit tetap berperilaku normal hanya saja aktivitas motorik mencit berkurang lebih kurang 3 menit dan kemudian mencit aktif kembali. Pengamatan efek toksik lebih lanjut adalah dengan mengukur kadar eritrosit, leukosit, trombosit dan hemoglobin darah. Pengamatan terhadap unsur-unsur darah (eritrosit, leukosit, trombosit) penting untuk pengujian klinik, karena morfologi, jumlah dan perbandingan berbagai jenis sel-sel merupakan indikator dari berbagai perubahan patologis tubuh. Selain itu, untuk menunjang hasil analisis darah dilakukan pemeriksaan histologis ginjal dan hati. Ginjal dan hati merupakan organ penting dalam proses eliminasi obat dari tubuh, sehingga ginjal dan hati seringkali sebagai sasaran utama zat-zat toksik. Nilai LD₅₀ obat herbal "FAD" tidak dapat dilakukan karena tidak ada mencit yang mati setelah 24 jam pemberian dosis terbesar yang dapat disondekan kepada mencit.

Data hematologi dan histologi yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan uji analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) yang

sebelumnya dilakukan uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) dan uji homogenitas (*Levene Test*).

Penghitungan jumlah eritrosit dilakukan dengan metode kamar hitung, menggunakan larutan Hayem sebagai pengencer untuk memudahkan penghitungan eritrosit dan mencegah terjadinya lisis pada eritrosit. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa penurunan jumlah eritrosit rata-rata mencit jantan terjadi pada kelompok dosis 1 dan 3, sedangkan pada mencit betina terjadi pada semua kelompok dosis kecuali kontrol normal setelah 24 jam perlakuan. Peningkatan jumlah eritrosit rata-rata mencit jantan terjadi pada semua kelompok dosis dan kelompok kontrol kecuali kelompok dosis 4, sedangkan pada mencit betina terjadi pada semua kelompok dosis kecuali kelompok dosis 3 dan kelompok kontrol setelah 14 hari perlakuan. Peningkatan dan penurunan jumlah eritrosit pada mencit jantan dan mencit betina setelah diuji secara statistik menggunakan analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan $\alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa pemberian obat herbal "FAD" tidak memberikan pengaruh yang bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

Penghitungan jumlah leukosit digunakan larutan Turk sebagai pengencer. Adanya asam asetat glasial akan melisiskan eritrosit sehingga memudahkan penghitungan jumlah leukosit. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa penurunan jumlah leukosit pada mencit jantan terjadi pada semua kelompok dosis kecuali kelompok kontrol setelah 24 jam perlakuan, sedangkan pada mencit betina penurunan jumlah leukosit hanya

terjadi pada kelompok dosis 1, 4 dan kelompok kontrol. Peningkatan jumlah leukosit pada mencit jantan terjadi pada kelompok dosis 2, 3 dan 4, sedangkan pada mencit betina terjadi pada semua kelompok dosis maupun kelompok kontrol setelah 14 hari perlakuan. Peningkatan dan penurunan jumlah leukosit pada mencit jantan dan mencit betina setelah diuji secara statistik menggunakan analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan $\alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa pemberian obat herbal “FAD” tidak memberikan pengaruh yang bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

Penghitungan jumlah trombosit digunakan larutan Rees-Ecker sebagai larutan pengencer, karena Rees-Ecker mengandung *brilliant cresyl blue* yang membuat trombosit berwarna kebiruan. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa trombosit mencit betina menurun setelah 24 jam pemberian larutan uji pada kelompok dosis 1, 3, 4 dan kelompok kontrol. Tetapi, pada mencit jantan semua kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol mengalami peningkatan jumlah trombosit 24 jam dan menurun setelah 14 hari. Peningkatan dan penurunan jumlah trombosit pada mencit jantan dan mencit betina setelah diuji secara statistik menggunakan analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan $\alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa pemberian obat herbal “FAD” tidak memberikan pengaruh yang bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

Penetapan kadar hemoglobin dilakukan dengan metode Sahli karena metode ini mudah dilakukan. Sebanyak 0,02 mL darah mencit dicampur

dengan 5 tetes HCl 0,1 N sehingga akan terbentuk asam hematin berwarna coklat, lalu dibandingkan dengan warna standar pada hemometer. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa baik mencit jantan maupun mencit betina mengalami penurunan hemoglobin setelah 24 jam, kecuali mencit jantan pada kelompok dosis 4, sedangkan setelah 14 hari terjadi peningkatan hemoglobin pada mencit jantan kelompok I dan mencit betina kelompok 1, 3 dan 4. Penurunan hemoglobin setelah 14 hari terjadi pada mencit jantan kelompok II dan III serta mencit betina kelompok II dan kelompok kontrol. Peningkatan dan penurunan jumlah hemoglobin pada mencit jantan dan mencit betina setelah diuji secara statistik menggunakan analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan $\alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa pemberian obat herbal "FAD" tidak memberikan pengaruh yang bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

Pada penghitungan jumlah eritrosit, leukosit, trombosit dan hemoglobin dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya karena penghitungan dilakukan secara manual, maka kemungkinan dapat terjadi kesalahan dalam menghitung jumlah sel darah. Selain itu, ketidaktepatan dalam mereaksikan sel-sel darah dengan masing-masing larutan pengencer, variasi biologis pada mencit juga menyebabkan faktor kesalahan yang terjadi semakin besar.

Pemeriksaan histologi hati dilakukan untuk melihat adanya kerusakan pada sel hati. Pemeriksaan secara kuantitatif dilakukan dengan mengukur diameter vena sentralis hati. Data yang diperoleh pada mencit jantan menunjukkan bahwa diameter vena sentralis rata-rata kelompok dosis 1, 2

dan 4 lebih kecil dibandingkan dengan kelompok dosis 3 dan kelompok kontrol. Sedangkan pada mencit betina diameter vena sentralis rata-rata kelompok dosis 1 dan 4 lebih kecil dibandingkan kelompok dosis 2, 3 dan kelompok kontrol. Perbedaan diameter vena sentralis rata-rata setelah diuji secara statistik menggunakan analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan $\alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa pemberian obat herbal "FAD" tidak memberikan pengaruh yang bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

Pemeriksaan secara kualitatif dilakukan dengan melihat kerusakan sel hati di sekitar vena sentralis. Sel-sel hati di daerah tepi lobulus berdekatan dengan pembuluh darah sedangkan daerah vena sentralis jauh dari pembuluh darah sehingga jika terjadi kerusakan, daerah tepi lobulus dapat diperbaiki lebih dahulu. Hasil pemeriksaan histologi hati secara kualitatif menunjukkan tidak terdapat kerusakan sel hati mencit jantan dan mencit betina pada semua kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Selain itu sel hati cepat beregenerasi sehingga kerusakan yang terjadi cepat diperbaiki.

Pemeriksaan histologis ginjal dilakukan secara kuantitatif dengan mengukur diameter kapsula Bowman dan jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula Bowman. Kerusakan ginjal dapat dinilai dari diameter kapsula Bowman dan jarak ruang antara glomerulus dan kapsula Bowman. Perbedaan rata-rata diameter kapsula Bowman setelah diuji secara statistik menggunakan analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan $\alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa pemberian obat herbal "FAD" tidak memberikan

pengaruh yang bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol.

Faktor-faktor yang mempengaruhi pengukuran diameter vena sentralis hati, diameter kapsula Bowman dan jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula Bowman diantaranya adalah variasi biologis masing-masing mencit, pemilihan preparat histologis yang diamati dan penghitungan yang dilakukan secara manual sehingga memperbesar faktor kesalahan dalam pengukuran.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian obat herbal "FAD" secara oral pada dosis 813,3 mg/kg bb sampai dengan dosis 12.708 mg/kg bb tidak menimbulkan kematian, tidak berpengaruh terhadap histologi ginjal dan hati serta tidak mempengaruhi hematologi.

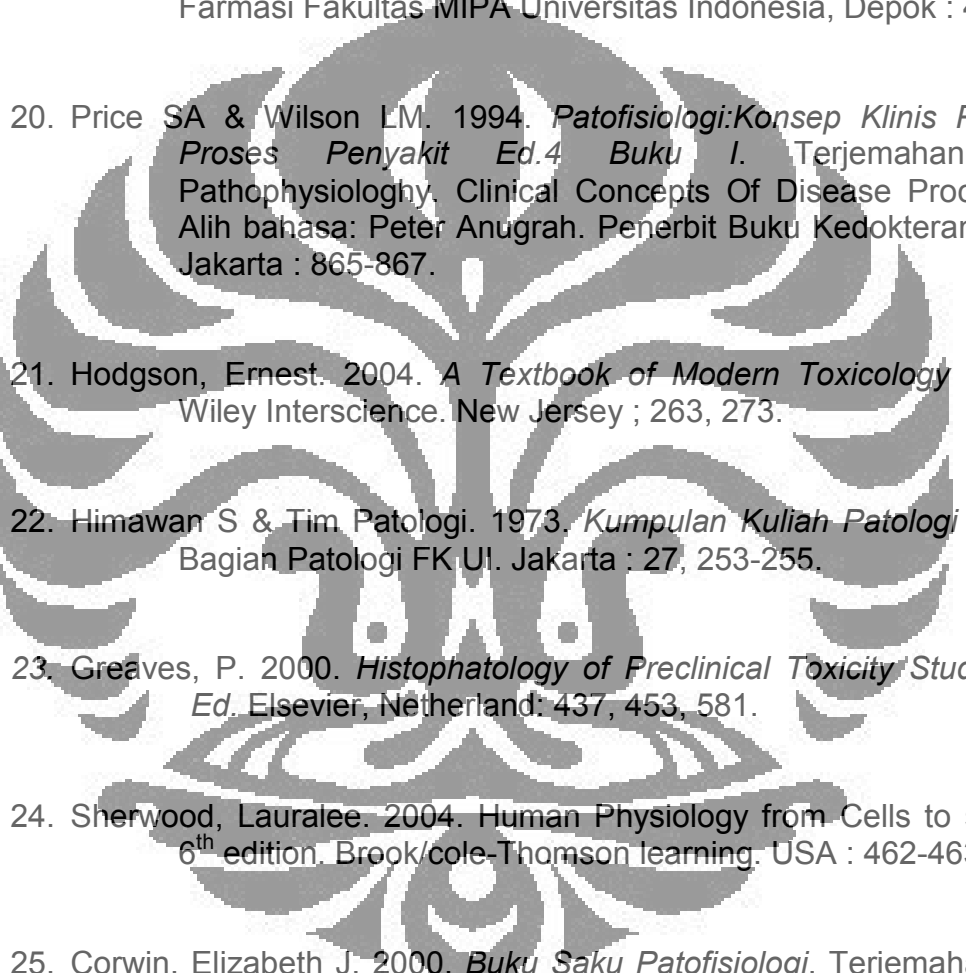
B. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas subkronis dan toksisitas kronik obat herbal "FAD".

DAFTAR ACUAN

1. Anonim. 2008. *Diabetes Mellitus Ancaman Umat Manusia di Dunia*. <http://www.depkes.go.id/>. 17 November 2008. Pukul 20:00.
2. Wells, Barbara G. 2008. *Pharmacotherapy Principles and Practice*. Mc Graw Hill Medical, Amerika : 643.
3. Anonim. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional: Tata Laksana Uji Praklinik Obat Tradisional: Tata Laksana Teknologi Farmasi Obat Tradisional: Tata Laksana Uji Klinik Obat Tradisional. Edisi I*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta: 3, 15-21.
4. Ganiswarna, Sulistia G. 1995. *Farmakologi Dan Terapi*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta: 22.
5. Muralidhara. 1999. *Food Chemical Toxicology. Volume 37(8) : 831*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>. 13 September 2008, pk. 14:00.
6. Anonim. 2006. *African Journal of Biomedical Research Ibadan Biomedical Communications Group*. Vol. 9, Num. 2 : 119-124. <http://www.bioline.org.br/>. 13 September 2008, pk. 14:00.
7. Nugroho, AH. 2006. *Pemanfaatan Pare (Momordica charantia Linn.). The Use of Bitter melon As A Natural Drug*. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta. <http://piofarmasiugm.blogspot.com/2006/09/pemanfaatan-pare-momordica-charantia.html>. 17 November 2008, pk. 20:15.

8. Braun, Lesley, Cohen, Marc. 2007. *CD To Accompany Herbs And Natural Supplements An Evidence-Based Guide 2nd Ed.* Elsevier Australia : 246-250, 261-267, 407-413.
9. Anderson, Richard A. 1998. *Chromium, Glucose Intolerance and Diabetes. Journal of The American College of Nutrition*, 17 (6) : 548-555. <http://www.jacn.org/>. 13 September 2008, pk. 15:00.
10. Lu, C.F. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko.* Edisi 2. Terj. dari *Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assesment.* Alih bahasa: Edi Nugroho. UI Press, Jakarta : 87, 208-212.
11. Lesson, C.R., Thomas S.L., Paparo, AA. 1991. *Buku Ajar Histologi.* Terjemahan dari *Text of Histology.* Alih bahasa: S.Koeparti Siswojo, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 97-106, 383-388, 427, 599.
12. Pulle, AA. 1952. *Compendium Van de terminologie Nomenclature en Systematiek de Zoodplanten.* Penerbit N.V.A. Oosthoek's uitgeverij-Maatschappij. Utrecht : 208, 293.
13. Wiryowidagdo, Sumali. 2007. *Kima dan Farmakologi Bahan Alam.* Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta : 159.
14. Steenis Van, C.G.G.J, 1975. *Flora Untuk Sekolah di Indonesia.* PT. Pradnya Paramita. Jakarta : 207.
15. Khare, C.P. 2007. *Indian Medicinal Plants An Illustrated Dictionary.* Springer. India : 150-151, 418-419.
16. Anonim. 2007. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants Volume 3.* 338-345.
17. Tjitrosoepomo, Gembong. 1991. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta).* UGM Press. Yogyakarta : 282.

- 
18. Kardono, L.B.S., Artanti, N., Dewiyanti, I.D., Basuki, T., 2003. *Selected Indonesian Medicinal Plants Monographs and Description Volume I*. PT. Gramedia Widiasarana Indonesia. Jakarta : 346-354.
19. Harmita & Radji M. 2004. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Departemen Farmasi Fakultas MIPA Universitas Indonesia, Depok : 49-78.
20. Price SA & Wilson LM. 1994. *Patofisiologi:Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Ed.4 Buku I*. Terjemahan dari Pathophysiology. Clinical Concepts Of Disease Processes. Alih bahasa: Peter Anugrah. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta : 865-867.
21. Hodgson, Ernest. 2004. *A Textbook of Modern Toxicology 3rd Ed*. Wiley Interscience. New Jersey ; 263, 273.
22. Himawan S & Tim Patologi. 1973. *Kumpulan Kuliah Patologi FK UI*. Bagian Patologi FK UI. Jakarta : 27, 253-255.
23. Greaves, P. 2000. *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies 3th Ed*. Elsevier, Netherland: 437, 453, 581.
24. Sherwood, Lauralee. 2004. *Human Physiology from Cells to system 6th edition*. Brook/cole-Thomson learning. USA : 462-463.
25. Corwin, Elizabeth J. 2000. *Buku Saku Patofisiologi*. Terjemahan dari Handbook of Pathophysiology. Alih Bahasa: Brahm U. Pendit. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 109-118, 445, 560.
26. Derelanko, Michael J., Hollinger, Mannfred A., 2002. *Handbook of Toxicology 2nd ed*. CRC Press LLC. Amerika : 51.

27. Widman, F.K. 1992. *Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, edisi 9. Terj. dari *Clinical Interpretation of Laboratory Test*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta : 17-29.
28. Junqueira C, Carneiro J, Kelley RO. 1998. *Histologi Dasar*. Edisi Ke-8. Alih Bahasa : Jan tambayong. Penerbit Bukan EGC, Jakarta : 228-230, 371-372.
29. Brown, BA. 1980. *Hematology : Principles & Procedures* Edisi 3. Lea & Febiger, Philadelphia : 71-83; 100-107.
30. Hoff J. 2000. *Methods of Blood Collection in the Mouse. Laboratory Animals*. 29 (10) : 47-53.
31. Tanzil, R. 1996. *Berbagai Masalah Pembuatan Sediaan Histologi*. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran UI, Jakarta : 7-8, 16-17, 21-24, 29-30.
32. Gandasoebbrata R. 1974. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat, Jakarta : 11-12, 14-16, 18-20, 23-25.
33. Uyanto, S.S. 2006. *Pedoman Analisis Data dengan SPSS ed 3*. Graha Ilmu, Jakarta : 42-54, 193-200.



Gambar 1. Pengambilan darah mencit melalui sinus orbital mata.



Gambar 2. Larutan Uji

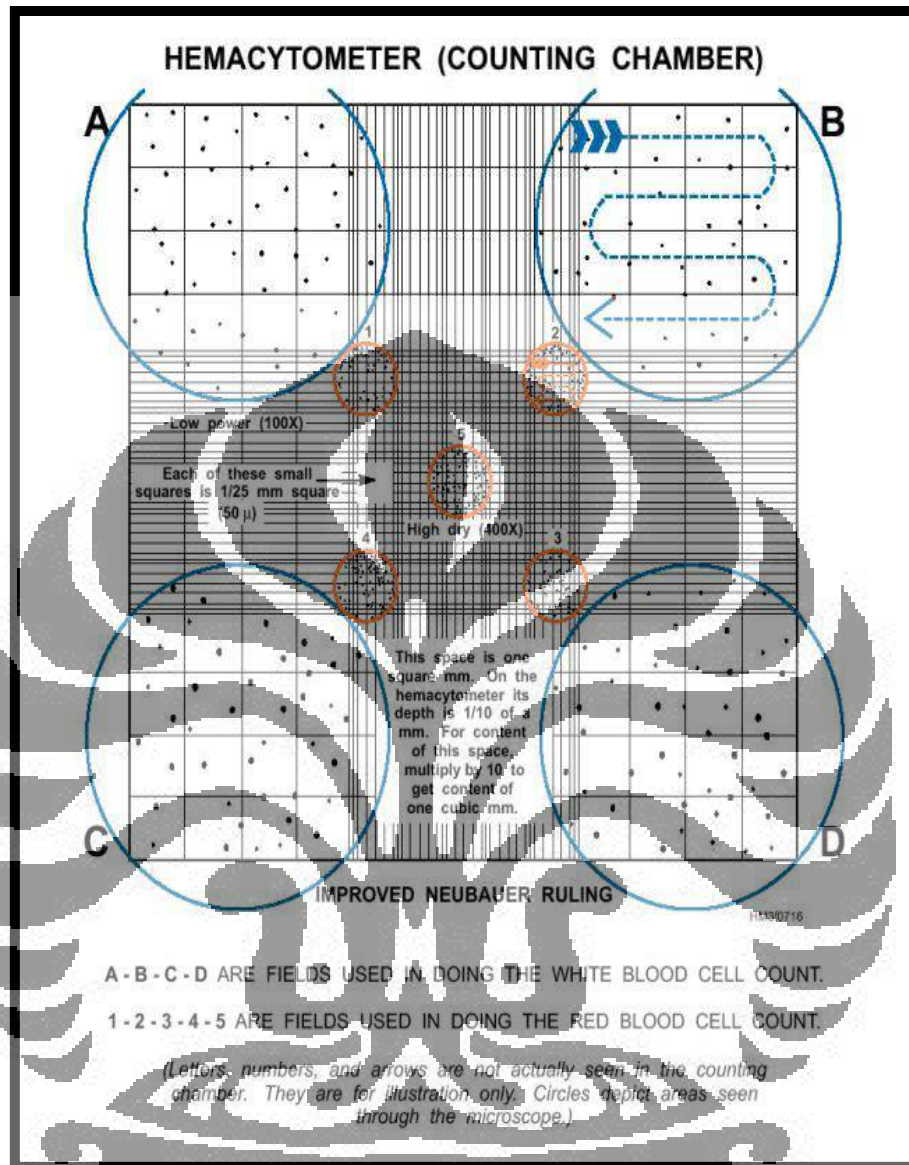
Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 4 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); 5. Kontrol (Larutan CMC 0,5 %).



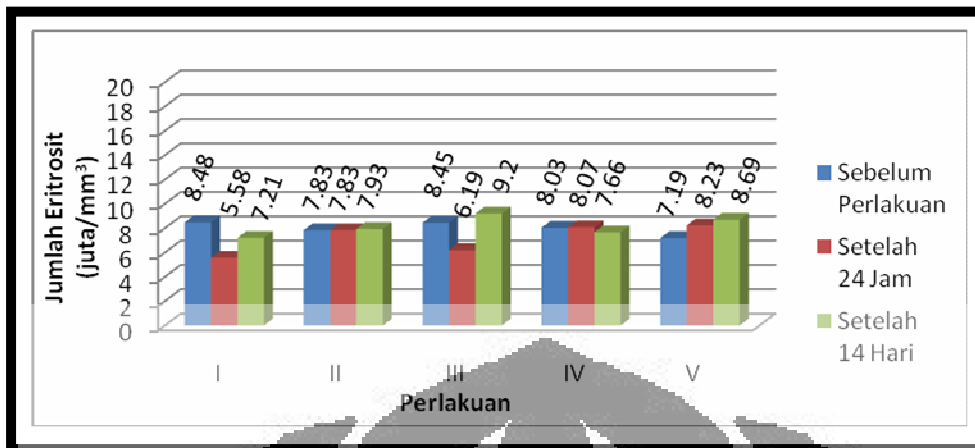
Gambar 3. Haemometer Sahli-Erka.



Gambar 4. Hemositometer *Improved Neubauer*

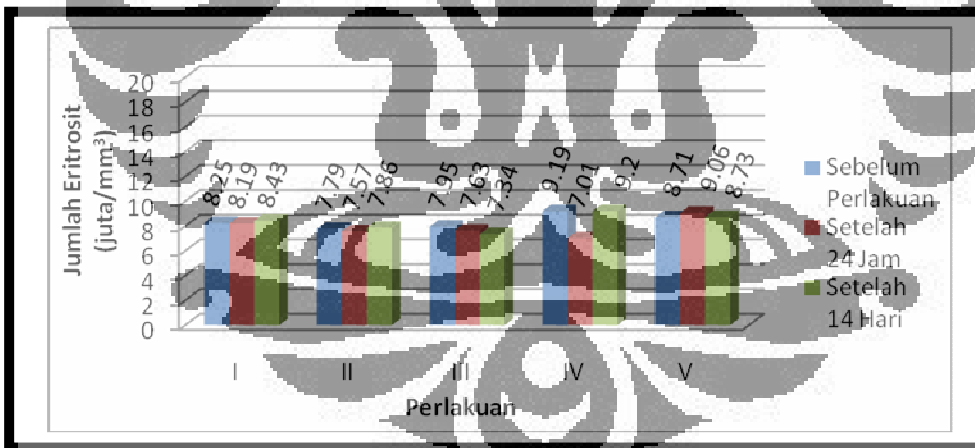


Gambar 5. Arah penghitungan sel darah pada kamar hitung *Improved Neubauer*.



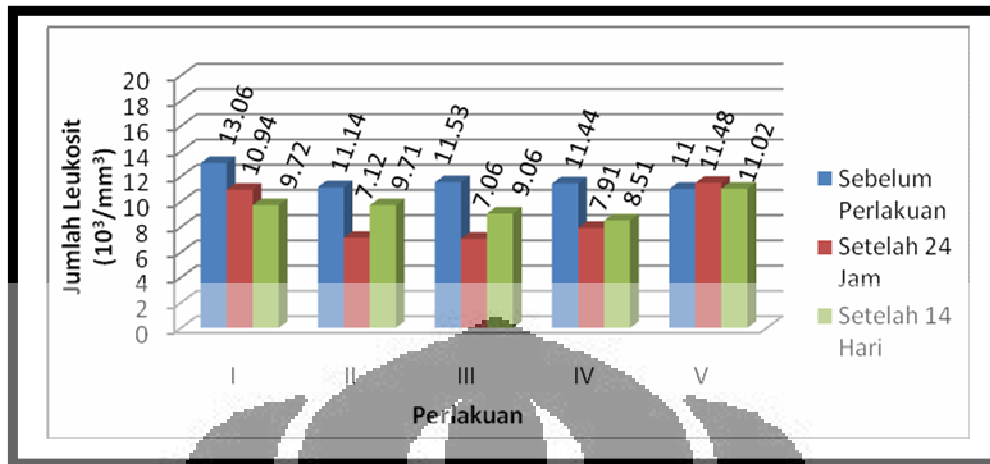
Gambar 6. Diagram Batang Jumlah Eritrosit Rata-Rata Mencit Jantan Sebelum Perlakuan (hari ke-0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis I (813,3 mg/kg bb); II. Dosis II (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis III (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis IV (12.708 mg/kg bb); V. kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



Gambar 7. Diagram Batang Jumlah Eritrosit Rata-Rata Mencit Betina Sebelum Perlakuan (hari ke-0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis I (813,3 mg/kg bb); II. Dosis II (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis III (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis IV (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



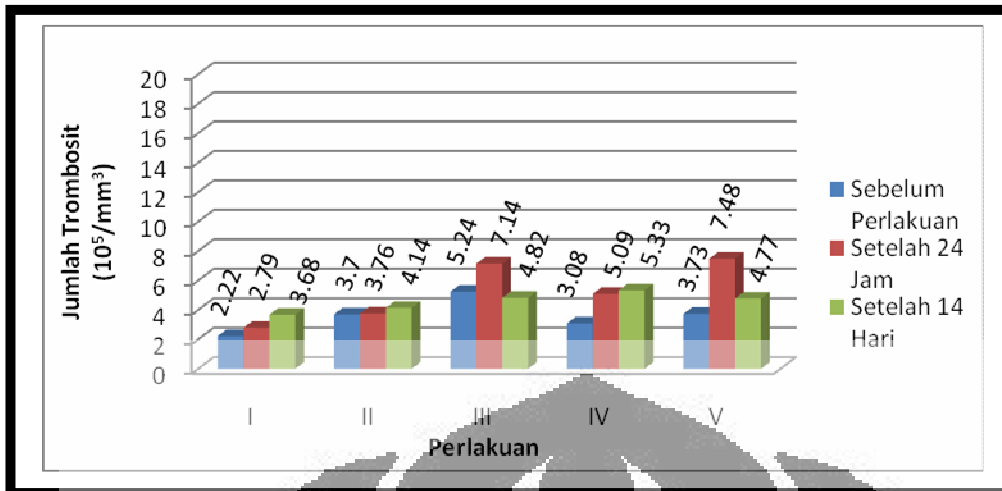
Gambar 8. Diagram Batang Jumlah Leukosit Rata-Rata Mencit Jantan Sebelum Perlakuan (hari ke-0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



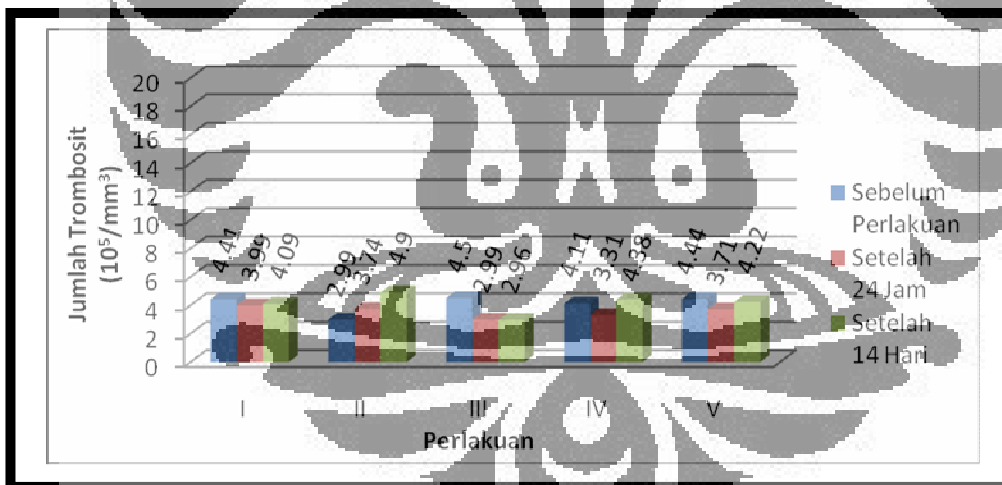
Gambar 9. Diagram Batang Jumlah Leukosit Rata-Rata Mencit Betina Sebelum Perlakuan (hari ke-0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



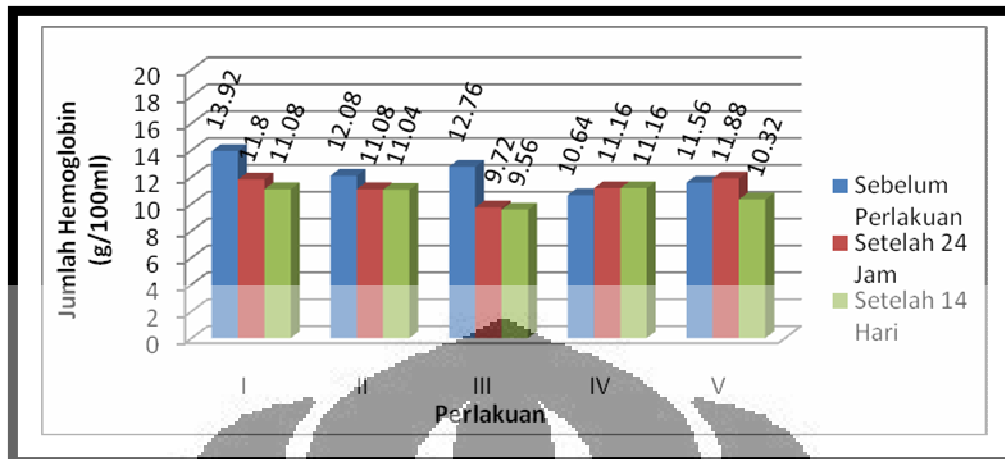
Gambar 10. Diagram Batang Jumlah Trombosit Rata-Rata Mencit Jantan Sebelum Perlakuan (hari ke-0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



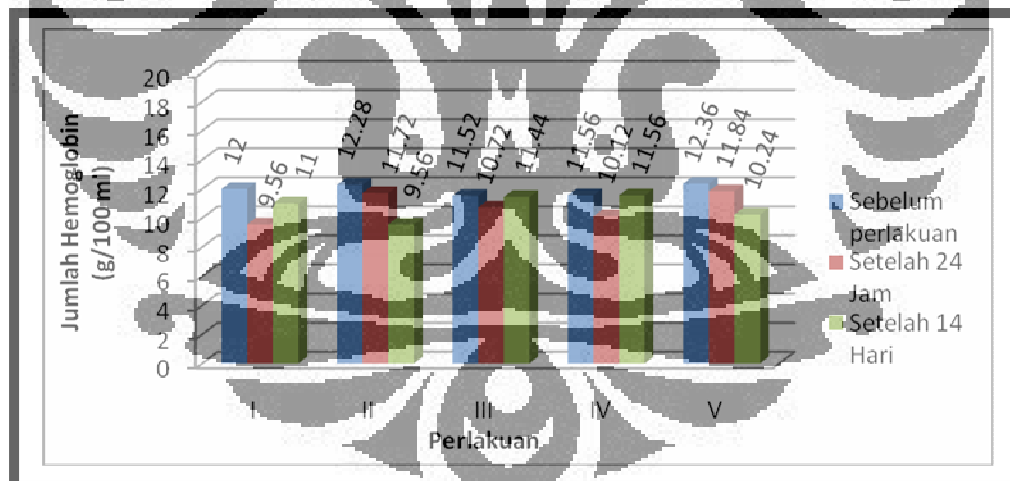
Gambar 11. Diagram Batang Jumlah Trombosit Rata-Rata Mencit Betina Sebelum Perlakuan (hari ke-0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



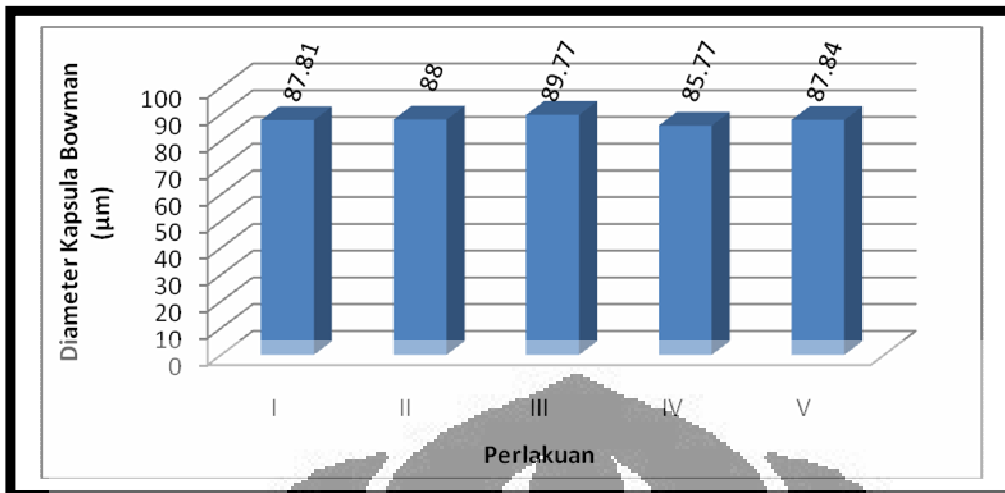
Gambar 12. Diagram Batang Jumlah Hemoglobin Rata-Rata Mencit Jantan Sebelum Perlakuan (hari ke-0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



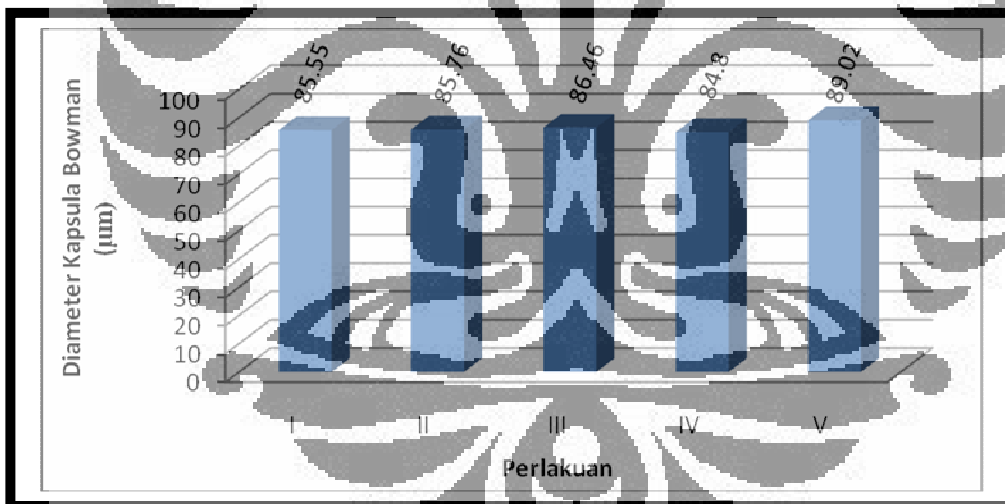
Gambar 13. Diagram Batang Jumlah Hemoglobin Rata-Rata Mencit Betina Sebelum Perlakuan (hari ke-0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



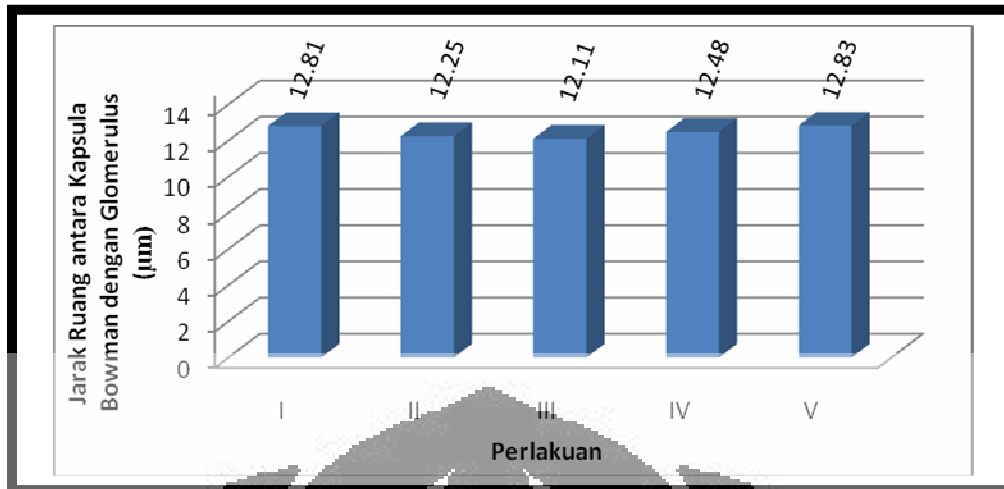
Gambar 14. Diagram Batang Diameter Rata-Rata Kapsula Bowman Mencit Jantan Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



Gambar 15. Diagram Batang Diameter Rata-Rata Kapsula Bowman Mencit Betina Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



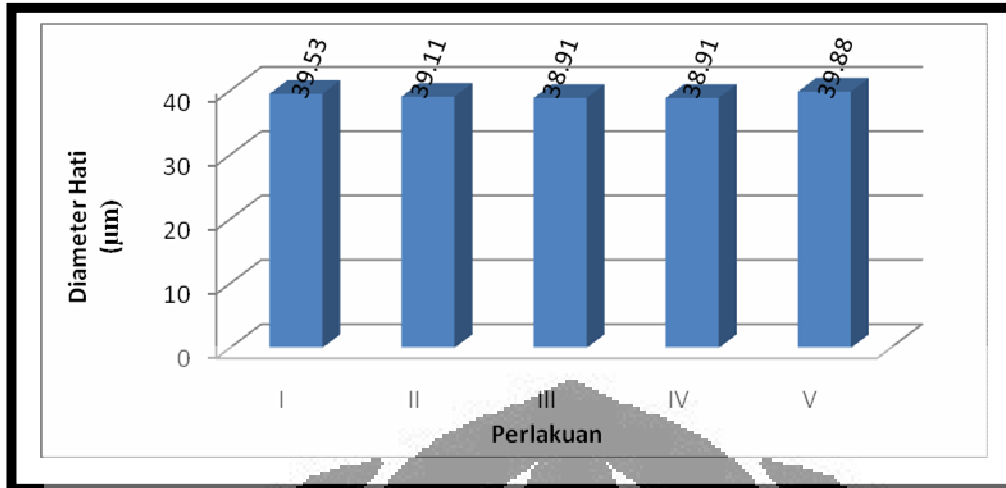
Gambar 16. Diagram Batang Rata-Rata Jarak Ruang antara Kapsula Bowman dengan Glomerulus Mencit Jantan Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



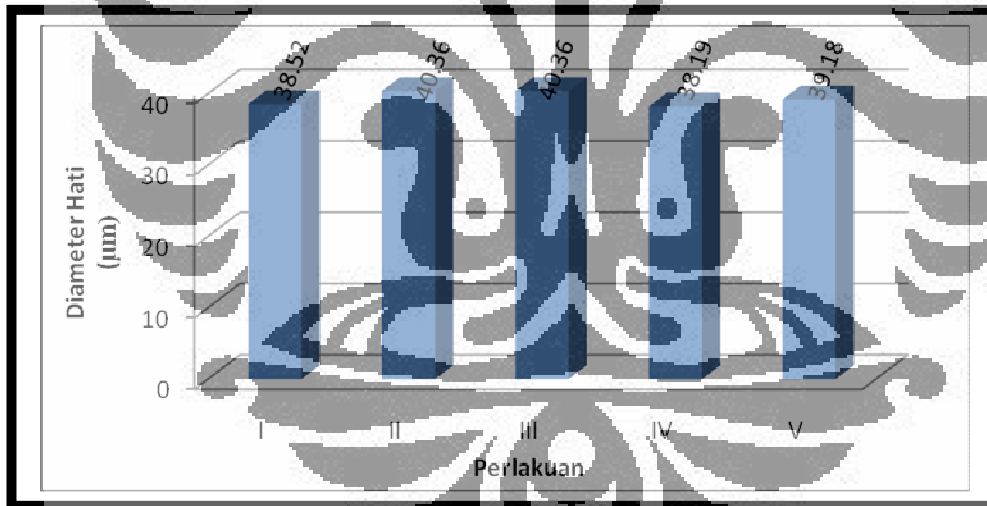
Gambar 17. Diagram Batang Rata-Rata Jarak Ruang antara Kapsula Bowman dengan Glomerulus Mencit Betina Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



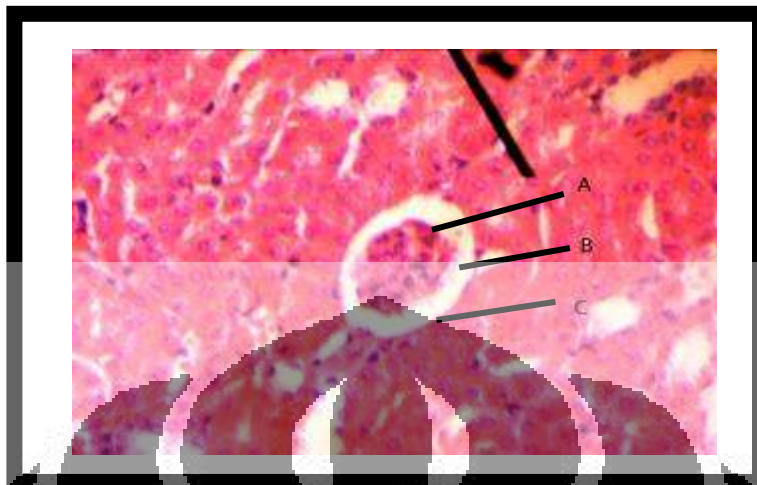
Gambar 18. Diagram Batang Diameter Rata-Rata Vena Sentralis Mencit Jantan Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/Kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/Kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/Kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/Kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%).



Gambar 19. Diagram Batang Diameter Rata-Rata Vena Sentralis Mencit Betina Setelah 14 Hari Perlakuan.

Keterangan : I. Dosis 1 (813,3 mg/Kg bb); II. Dosis 2 (2033,3 mg/Kg bb); III. Dosis 3 (5083,2 mg/Kg bb); IV. Dosis 4 (12.708 mg/Kg bb); V. Kontrol normal (larutan CMC 0,5%)



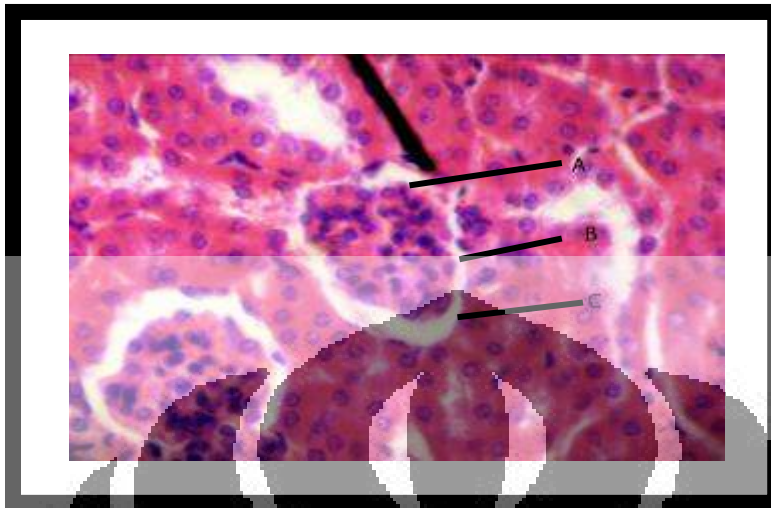
Gambar 20. Gambaran histologi ginjal kelompok betina (dosis 813,3 mg/kg bb), perbesaran 400x.

Keterangan : A = Glomerulus normal, B = Ruang antara glomerulus dan kapsula bowman, C = Kapsula bowman.



Gambar 21. Gambaran histologi ginjal kelompok jantan (dosis 813,3 mg/kg bb), perbesaran 400x.

Keterangan : A = Glomerulus normal, B = Ruang antara glomerulus dan kapsula bowman, C = Kapsula bowman.



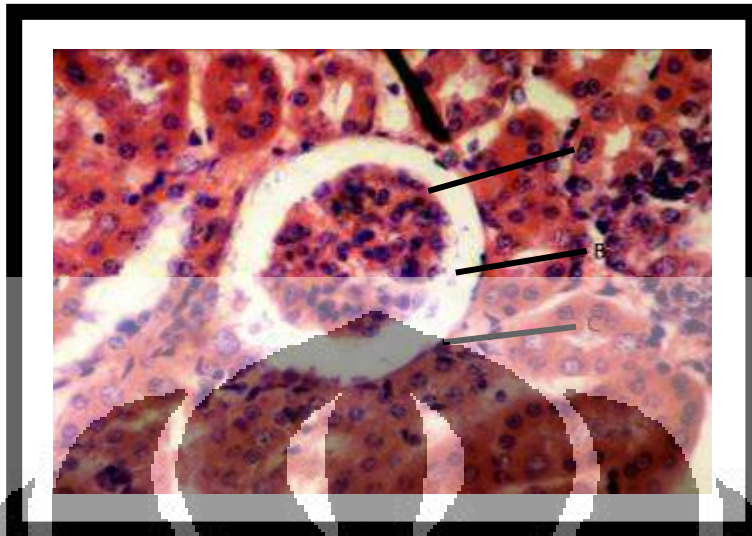
Gambar 22. Gambaran histologi ginjal kelompok betina (dosis 2033,3 mg/kg bb), perbesaran 400x.

Keterangan : A = Glomerulus normal, B = Ruang antara glomerulus dan kapsula bowman, C = Kapsula bowman.



Gambar 23. Gambaran histologi ginjal kelompok jantan (dosis 2033,3 mg/kg bb), perbesaran 400x.

Keterangan : A = Glomerulus normal, B = Ruang antara glomerulus dan kapsula bowman, C = Kapsula bowman.



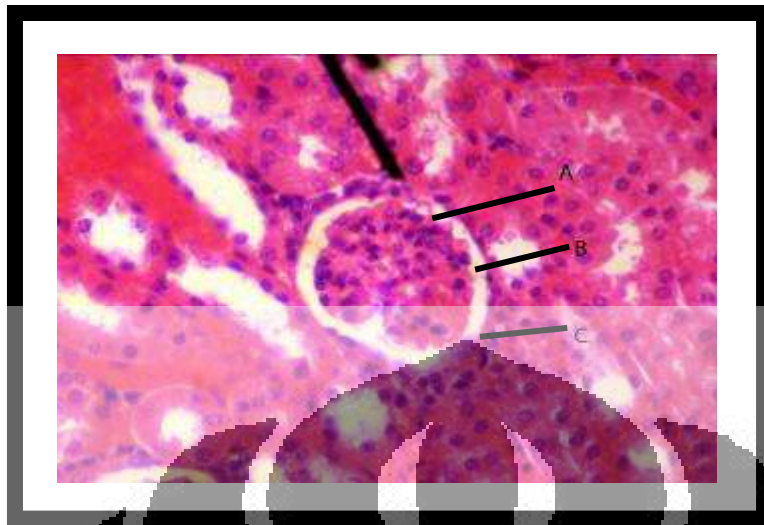
Gambar 24. Gambaran histologi ginjal kelompok betina (dosis 5083,2 mg/kg bb), perbesaran 400x.

Keterangan : A = Glomerulus normal, B = Ruang antara glomerulus dan kapsula bowman, C = Kapsula bowman.



Gambar 25. Gambaran histologi ginjal kelompok jantan (dosis 5083,2 mg/kg bb) pada mencit jantan dengan perbesaran 400x.

Keterangan : A = Glomerulus normal, B = Ruang antara glomerulus dan kapsula bowman, C = Kapsula bowman.



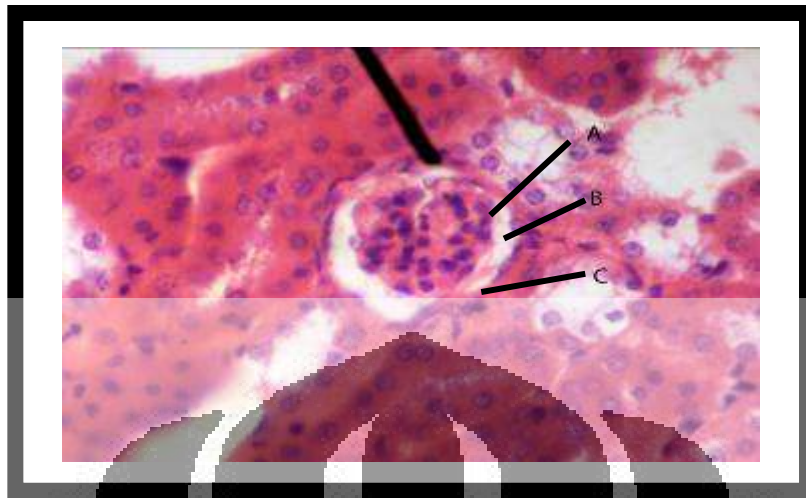
Gambar 26. Gambaran histologi ginjal kelompok betina (dosis 12.708 mg/kg bb), perbesaran 400x.

Keterangan : A = Glomerulus normal, B = Ruang antara glomerulus dan kapsula bowman, C = Kapsula bowman.



Gambar 27. Gambaran histologi ginjal kelompok jantan (dosis 12.708 mg/kg bb), perbesaran 400x.

Keterangan : A = Glomerulus normal, B = Ruang antara glomerulus dan kapsula bowman, C = Kapsula bowman.



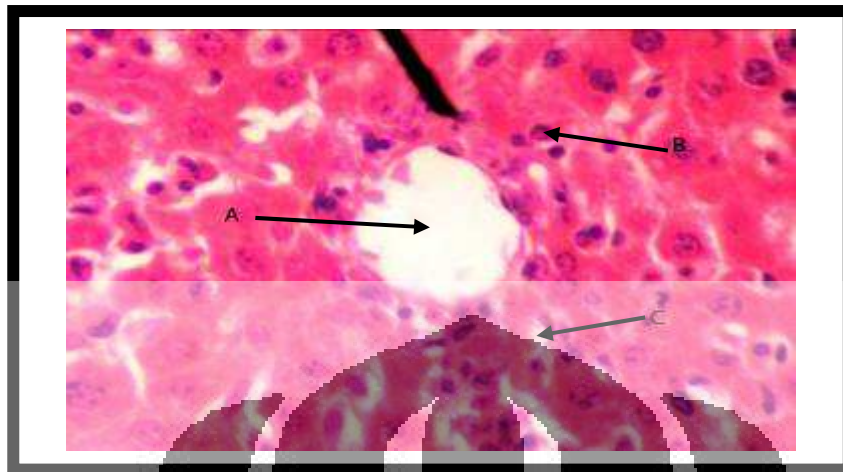
Gambar 28. Gambaran histologi ginjal kelompok betina kontrol normal (larutan CMC 0,5%), perbesaran 400x.

Keterangan : A = Glomerulus normal, B = Ruang antara glomerulus dan kapsula bowman, C = Kapsula bowman.



Gambar 29. Gambaran histologi ginjal kelompok jantan kontrol normal (larutan CMC 0,5%), perbesaran 400x.

Keterangan : A = Glomerulus normal, B = Ruang antara glomerulus dan kapsula bowman, C = Kapsula bowman.



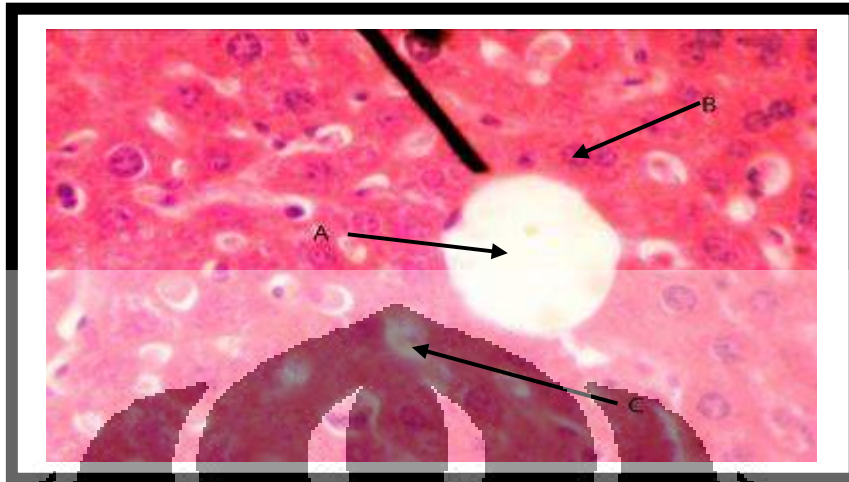
Gambar 30. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 813,3 mg/kg bb, dengan perbesaran 400x.

Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



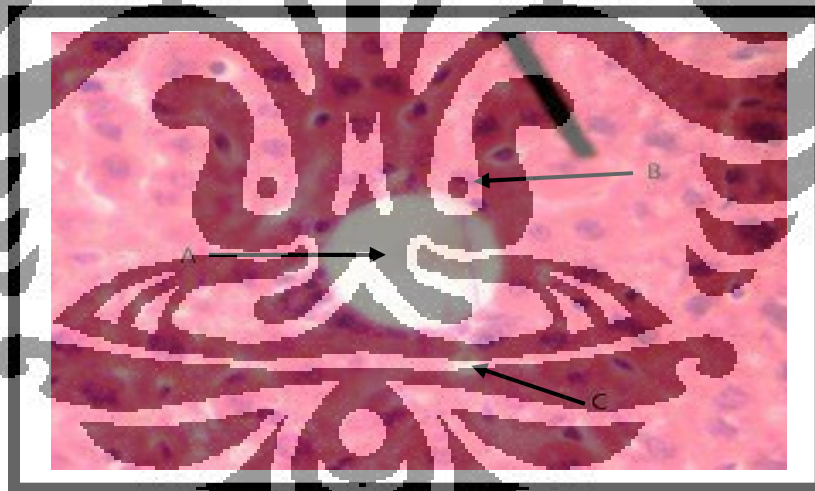
Gambar 31. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 813,3 mg/kg bb, dengan perbesaran 400x.

Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



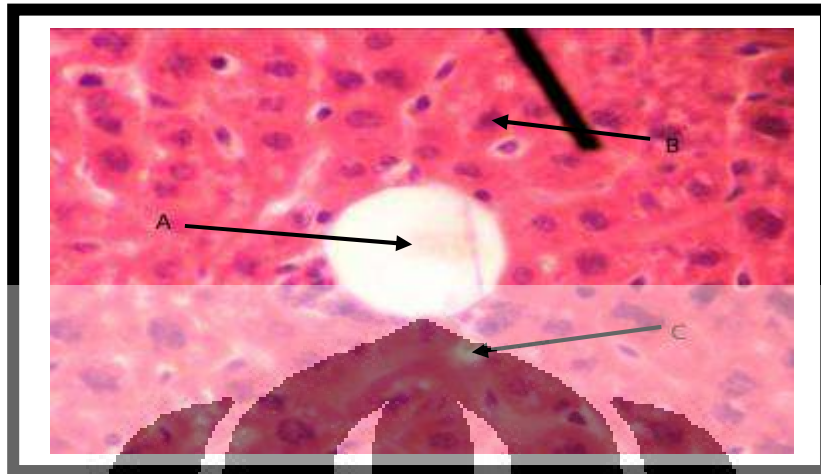
Gambar 32. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 2033,3 mg/kg bb, dengan perbesaran 400x.

Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



Gambar 33. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 2033,3 mg/kg bb, dengan perbesaran 400x.

Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



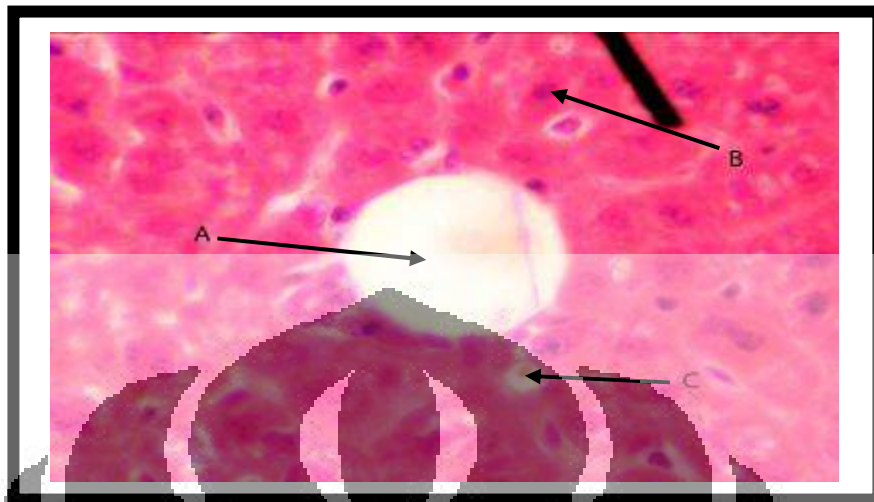
Gambar 34. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 5083,2 mg/kg bb, dengan perbesaran 400x.

Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



Gambar 35. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 5083,2 mg/kg bb, dengan perbesaran 400x.

Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid



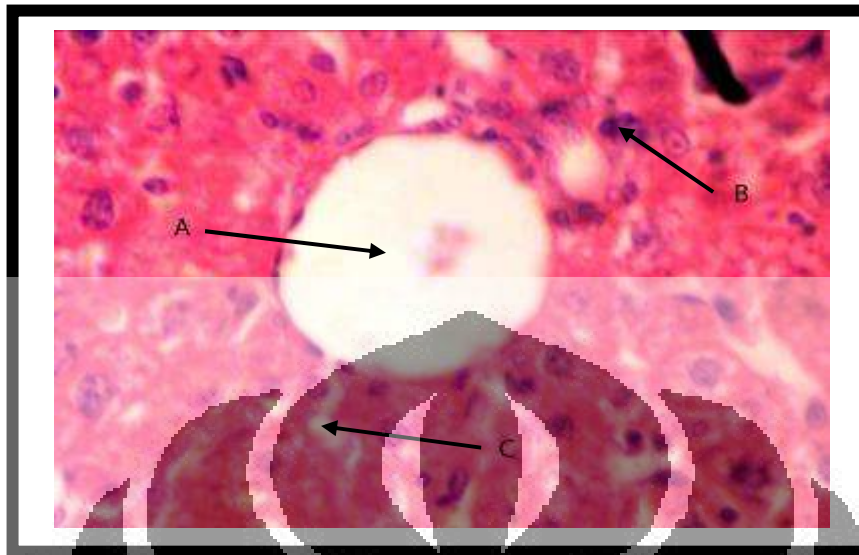
Gambar 36. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 12.708 mg/kg bb, dengan perbesaran 400x

Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid



Gambar 37. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 12.708 mg/kg bb, dengan perbesaran 400x.

Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



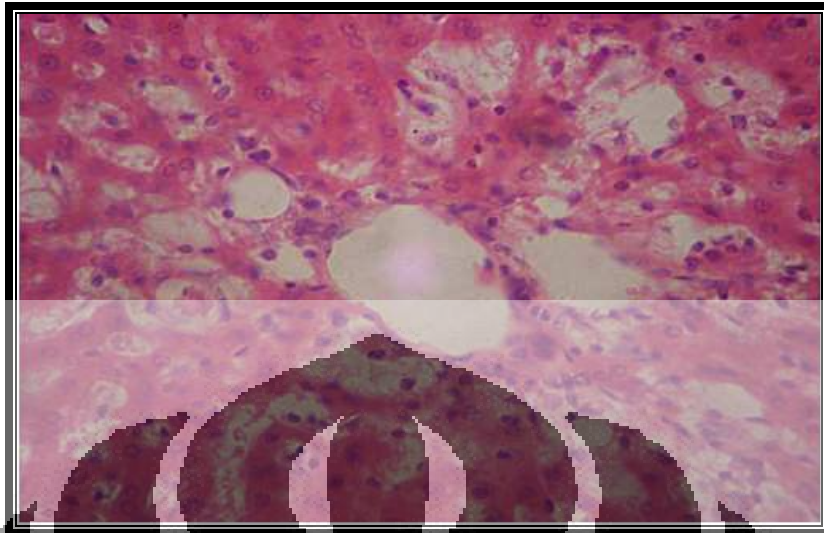
Gambar 38. Gambaran histologi hati kelompok betina kontrol normal (larutan CMC 0,5%), dengan perbesaran 400x.

Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



Gambar 39. Gambaran histologi hati kelompok jantan kontrol normal (larutan CMC 0,5%), dengan perbesaran 400x.

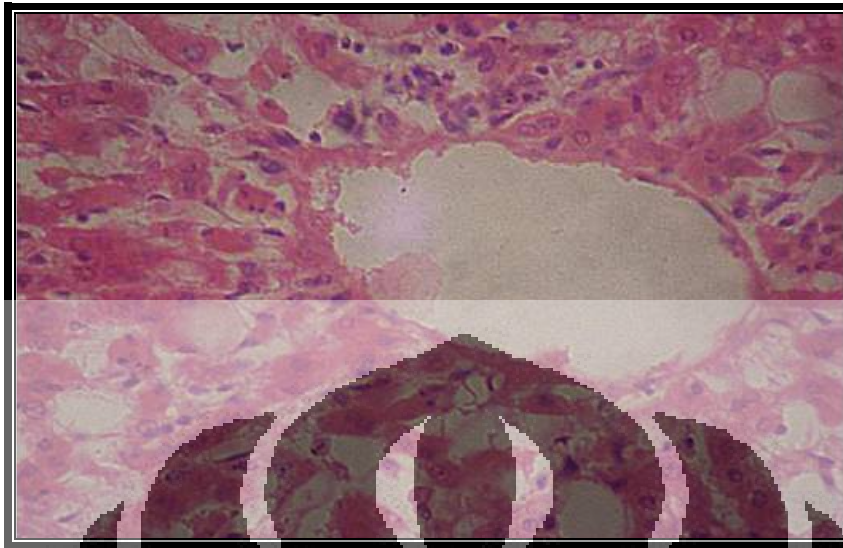
Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



Gambar 40. Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan 10%



Gambar 41. Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan 20%



Gambar 42. Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan > 40%



Tabel 9**Klasifikasi senyawa berdasarkan toksisitas relatif (10)**

Kategori	LD₅₀
Super toksik	5 mg/kg atau kurang
Sangat toksik	5-50 mg/kg
Toksik	50-500 mg/kg
Cukup toksik	0,5-5 g/kg
Sedikit toksik	5-15 g/kg
Praktis tidak toksik	> 15 g/kg

Tabel 10**Pelaksanaan Percobaan**

Kelompok	Dosis (mg/kg bb)	Jumlah Mencit	
		Jantan	Betina
I	813,3	5	5
II	2033,3	5	5
III	5083,2	5	5
IV	12.708	5	5
V	Larutan CMC 0,5%	5	5

Tabel 11

Jumlah Eritrosit Rata-Rata Mencit Jantan Hari Ke-0 (Sebelum Perlakuan),
Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Kelompok	Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$)		
	Hari Ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	8,02	5,39	6,82
	8,4	6,93	7,53
	7,93	4,99	7,82
	11,5	4,22	8,14
	6,55	6,38	5,73
Jumlah Eritrosit rata-rata \pm SD	8,48 \pm 1,827	5,582 \pm 1,083	7,208 \pm 0,959
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	8,5	8,5	6,25
	6,92	6,92	10,78
	8,81	8,81	7,4
	6,6	6,6	7
	8,34	8,34	8,24
Jumlah Eritrosit rata-rata \pm SD	7,834 \pm 1,001	7,834 \pm 1,001	7,934 \pm 1,745
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	8,5	5,33	8,83
	7,69	5,72	9,94
	9,55	5,61	8
	8,31	6,96	9,27
	8,21	7,32	9,96
Jumlah Eritrosit rata-rata \pm SD	8,452 \pm 0,683	6,188 \pm 0,889	9,200 \pm 0,822
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	10,77	6,18	5,46
	8,46	9	5,16
	6,44	8,28	9,76
	7,15	8	8,12
	7,36	8,88	9,81
Jumlah Eritrosit rata-rata \pm SD	8,036 \pm 1,691	8,068 \pm 1,133	7,662 \pm 2,254
V (Larutan CMC 0,5%)	7,56	7,5	8,71
	7,11	8	7,89
	8,13	8,41	9,01
	5,49	8,5	9,19
	7,68	8,75	8,65
Jumlah Eritrosit rata-rata \pm SD	7,194 \pm 1,019	8,232 \pm 0,490	8,690 \pm 0,498

Tabel 12

Jumlah Eritrosit Rata-Rata Mencit Betina Hari Ke-0 (Sebelum Perlakuan),
Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Kelompok	Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$)		
	Hari Ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	8,03	6,71	9,41
	8,91	8,65	8,87
	7,94	7,31	6,53
	8,24	6,06	10,03
	8,13	12,26	7,3
Jumlah Eritrosit rata-rata \pm SD	8,250 \pm 0,386	8,198 \pm 2,464	8,428 \pm 1,466
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	8,34	6,15	7,76
	7,2	6,62	6,98
	7,65	10,09	5,44
	9,54	6,22	7,39
	6,24	8,76	11,73
Jumlah Eritrosit rata-rata \pm SD	7,794 \pm 1,238	7,568 \pm 1,768	7,860 \pm 2,337
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	6,28	8	10,24
	8,64	6,87	6,71
	7,39	7,23	6,54
	7,25	9,99	6,67
	10,19	6,05	6,55
Jumlah Eritrosit rata-rata \pm SD	7,950 \pm 1,507	7,628 \pm 1,495	7,342 \pm 1,622
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	8	8,01	8,87
	10,14	5,5	8,71
	7,67	7,25	8,36
	9,67	7	8,26
	10,46	7,29	8,71
Jumlah Eritrosit rata-rata \pm SD	9,188 \pm 1,272	7,010 \pm 0,924	9,202 \pm 0,933
V (Larutan CMC 0,5%)	7,29	8,12	8,49
	10,8	8,31	8,92
	9,28	8,4	9,32
	9,07	8,48	8,94
	7,11	8,48	8
Jumlah Eritrosit rata-rata \pm SD	8,710 \pm 1,533	9,062 \pm 1,084	8,734 \pm 0,504

Tabel 13

**Jumlah Leukosit Rata-Rata Mencit Jantan Hari Ke-0 (Sebelum Perlakuan),
Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan**

Kelompok	Jumlah Leukosit ($10^3/\text{mm}^3$)		
	Hari Ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	14,95	13,15	11,15
	7,05	9,6	9,05
	10,85	9,4	12,65
	14,3	10,3	6,1
	18,15	12,25	9,65
Jumlah Leukosit rata-rata \pm SD	13,060 \pm 4,243	10,940 \pm 1,671	9,720 \pm 2,459
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	10,05	6,5	9,4
	11,6	8,4	6,25
	12,45	8,1	10,1
	11,35	6,8	7,05
	10,25	6,05	15,75
Jumlah Leukosit rata-rata \pm SD	11,140 \pm 0,993	7,120 \pm 1,072	9,710 \pm 3,734
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	10,05	7,55	7,1
	10,8	6,8	9,55
	9,8	6,95	13,4
	16,85	8,3	7,55
	10,15	5,7	7,7
Jumlah Leukosit rata-rata \pm SD	11,530 \pm 2,996	7,060 \pm 0,962	9,060 \pm 2,600
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	13,75	8,15	10,3
	14,4	5,05	7,1
	7,35	9,75	8,35
	13,75	7,45	7,8
	7,95	9,15	9
Jumlah Leukosit rata-rata \pm SD	11,440 \pm 3,476	7,910 \pm 1,828	8,510 \pm 1,220
V (Larutan CMC 0,5%)	10,55	10,5	7,45
	10,2	11	15, .
	15,8	12,05	10,75
	7,7	11,75	14,65
	10,75	12,1	7,15
Jumlah Leukosit rata-rata \pm SD	11,000 \pm 2,951	11,480 \pm 0,702	11,02 \pm 3,795

Tabel 14

**Jumlah Leukosit Rata-Rata Mencit Betina Hari Ke-0 (Sebelum Perlakuan),
Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan**

Kelompok	Jumlah Leukosit ($10^3/\text{mm}^3$)		
	Hari Ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	15,75	6,6	8,8
	14,4	8,95	13,95
	8,2	6,3	13,15
	12,85	10,9	14
	8,75	9,25	8,45
	Jumlah Leukosit rata-rata \pm SD	11,990 \pm 3,374	8,400 \pm 1,932
(Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	9,25	6,15	14,6
	6,1	5,5	5,8
	6,55	9,7	15,25
	8,15	8,2	7,4
	5,3	9,7	15,6
	Jumlah Leukosit rata-rata \pm SD	7,070 \pm 1,602	7,850 \pm 1,961
(Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	7,1	5,85	10,65
	6,7	7,65	18,95
	8,15	6,5	19,65
	6	12,5	11,95
	6,1	10,3	15,55
	Jumlah Leukosit rata-rata \pm SD	6,810 \pm 0,874	8,560 \pm 2,782
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	12,1	7,95	13,75
	10,4	7,1	10,85
	6	9,75	18,6
	6,25	7,5	13,05
	10,15	8,25	13,5
	Jumlah Leukosit rata-rata \pm SD	8,980 \pm 2,714	8,110 \pm 1,016
V (Larutan CMC 0,5%)	10,05	6,3	9,7
	7,05	6,05	8,6
	7,9	7,5	7,35
	12,75	7,65	10,8
	11,9	7,95	11,5
	Jumlah Leukosit rata-rata \pm SD	9,930 \pm 2,463	7,090 \pm 0,855

Tabel 15

Jumlah Trombosit Rata-Rata Mencit Jantan Hari Ke-0 (Sebelum Perlakuan),
Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Kelompok	Jumlah Trombosit ($10^5/\text{mm}^3$)		
	Hari Ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	1,44	3,1	3,92
	3,72	1,86	4,08
	1,08	1,8	3,42
	1,8	4,5	2,38
	3,08	2,7	4,62
	Jumlah Trombosit rata-rata \pm SD	2,224 \pm 1,126	2,792 \pm 1,103
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	4	4	3,9
	2,34	2,34	5,38
	4,58	4,58	3,76
	4,72	4,72	4
	2,86	3,16	3,68
	Jumlah Trombosit rata-rata \pm SD	3,70 \pm 1,055	3,760 \pm 1,003
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	5,9	6,9	3,76
	5,9	7,02	4,7
	4,96	7,3	3,38
	6,42	8,3	6
	3	6,2	6,28
	Jumlah Trombosit rata-rata \pm SD	5,236 \pm 1,356	7,144 \pm 0,762
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	3,88	7,14	6,08
	4,2	4,06	4,58
	2,08	5,24	5,46
	2,24	5	7,4
	3	4,04	3,14
	Jumlah Trombosit rata-rata \pm SD	3,080 \pm 0,949	5,096 \pm 1,264
V (Larutan CMC 0,5%)	2,82	6,9	3,14
	2,24	7,08	4,22
	4,14	9,9	6,04
	3,66	7	5,42
	5,8	6,5	5,02
	Jumlah Trombosit rata-rata \pm SD	3,732 \pm 1,369	7,476 \pm 1,373

Tabel 16
Jumlah Trombosit Rata-Rata Mencit Betina Hari Ke-0 (Sebelum Perlakuan),
Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Kelompok	Jumlah Trombosit ($10^5/\text{mm}^3$)		
	Hari Ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	4,16	3,12	4
	5,1	3,16	4,9
	4,2	4,64	4,12
	3,64	4,02	5,1
	4,94	5,02	2,32
Jumlah Trombosit rata-rata \pm SD	4,408 \pm 0,603	3,992 \pm 0,856	4,088 \pm 1,098
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	3,44	2,52	4,32
	1,98	4,44	4,2
	1,94	3,98	4,56
	3,46	4,34	6,42
	4,14	3,4	5
Jumlah Trombosit rata-rata \pm SD	2,992 \pm 0,983	3,736 \pm 0,792	4,900 \pm 0,903
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	7,72	1,64	4,18
	3,02	3,16	1,72
	3,46	1,88	2,9
	4,48	3,4	2,88
	3,84	,88	3,12
Jumlah Trombosit rata-rata \pm SD	4,504 \pm 1,876	2,992 \pm 1,306	2,960 \pm 0,875
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	3,54	5,4	4,32
	3,96	2,52	4,44
	5	3,8	5,72
	3,6	3,7	2,42
	4,46	1,12	5
Jumlah Trombosit rata-rata \pm SD	4,112 \pm 0,617	3,308 \pm 1,595	4,38 \pm 1,228
V (Larutan CMC 0,5%)	3	2,96	3,82
	4,6	3,44	4,94
	3,16	3,6	4,64
	5,84	5,54	4,7
	5,58	3	3
Jumlah Trombosit rata-rata \pm SD	4,436 \pm 1,323	3,708 \pm 1,060	4,220 \pm 0,802

Tabel 17

Jumlah Hemoglobin Rata-Rata Mencit Jantan Hari Ke-0 (Sebelum Perlakuan),
Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Kelompok	Jumlah Hemoglobin (g/100 mL)		
	Hari Ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	16	10,4	11,8
	15	13,2	11,8
	13,4	12,6	11,2
	13,2	12	11,8
	12	10,8	8,8
Jumlah Hemoglobin rata-rata ± SD	13,920±1,578	11,800±1,183	11,080±1,300
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	15	10,4	9,6
	11,8	11,8	8,4
	9,8	9,8	11,6
	10,8	10,4	12,2
	13	13	13,4
Jumlah Hemoglobin rata-rata ± SD	12,080±2,017	11,080±1,300	11,040±2,016
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	10,4	9,4	10
	13,4	11,8	10,2
	16	8,8	6,2
	11,2	9,6	10,8
	12,8	9	10,6
Jumlah Hemoglobin rata-rata ± SD	12,760±2,174	9,720 ±1,205	9,560 ±1,904
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	10,8	13,2	8,2
	9,8	13,2	11,6
	12,2	8,8	10,6
	10,8	11	12
	9,6	9,6	13,4
Jumlah Hemoglobin rata-rata ± SD	10,640±1,033	11,160±2,021	11,160±1,936
V (Larutan CMC 0,5%)	15,4	8	11,2
	13,2	12,4	10,2
	12,6	10	7
	8,6	14	10,8
	8	15	12,4
Jumlah Hemoglobin rata-rata ± SD	11,560±3,160	11,880±2,876	10,320±2,022

Tabel 18

Jumlah Hemoglobin Rata-Rata Mencit Betina Hari Ke-0 (Sebelum Perlakuan),
Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Kelompok	Jumlah Hemoglobin (g/100 ml)		
	Hari Ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	14,8	10,8	9,8
	11,6	10	10,4
	11,6	9,2	12
	9,6	8,4	10,6
	12,4	9,4	12,2
Jumlah Hemoglobin rata-rata ± SD	12,000±1,876	9,560 ±0,899	11,000±1,049
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	9,66	13	10,4
	12	11,6	7
	13	12	11,4
	14,4	10,2	10,2
	12,4	11,8	8,8
Jumlah Hemoglobin rata-rata ± SD	12,280±1,753	11,720±1,006	9,560 ± 1,705
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	11,6	11,2	10,8
	13,8	10,6	8,6
	12,4	11,8	11,4
	10,4	11	13,4
	9,4	9	13
Jumlah Hemoglobin rata-rata ± SD	11,520±1,712	10,720±1,055	11,440±1,920
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	9,4	11,2	11,2
	10,2	8,6	8,8
	12,8	10,8	12,4
	11,4	11	11,4
	14	9	14
Jumlah Hemoglobin rata-rata ± SD	11,560±1,873	10,120±1,222	11,56 ±1,899
V (Larutan CMC 0,5%)	11,8	11	11
	13,2	13	11,2
	13,4	13,8	8,6
	1,4	11,8	11,4
	12	9,6	9
Jumlah Hemoglobin rata-rata ± SD	12,360±0,888	11,840±1,652	10,240±1,330

Tabel 19
Hasil Pengukuran Diameter Kapsula Bowman Rata-Rata
pada Mencit Jantan

Kelompok	Rata-rata Diameter Kapsula Bowman (µm)	Nilai Rata-rata dari Rata-rata Diameter Kapsula Bowman ± SD (µm)
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	85,717 83,48 87,5 91,74 90,63	87,813 ± 3,414
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	83,48 83,75 87,5 91,74 90,63	88,000 ± 4,737
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	88,39 91,96 91,52 84,46 82,86	87,838 ± 4,094
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	82,14 84,38 87,95 90,44 83,92	85,766 ± 3,358
V (Larutan CMC 0,5%)	97,32 88,84 86,16 85,98 90,53	89,766 ± 4,633

Tabel 20
Hasil Pengukuran Diameter Kapsula Bowman Rata-rata
pada Mencit Betina

Kelompok	Rata-rata Diameter Kapsula Bowman (µm)	Nilai Rata-rata dari Rata-rata Diameter Kapsula Bowman ± SD (µm)
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	82,85 94,14 82,58 83,3 84,42	85,548 ± 4,908
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	85,71 85,53 87,05 83,92 86,61	85,764 ± 1,207
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	80,35 88,84 87,95 96,42 91,52	89,016 ± 5,860
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	82,25 89,11 82,85 83,48 85,71	84,800 ± 2,681
V (Larutan CMC 0,5%)	90,53 90,45 85,27 86,16 79,91	86,464 ± 4,384

Tabel 21**Hasil Pengukuran Jarak Ruang antara Glomerulus dengan Kapsula Bowman Rata-Rata Pada Mencit Jantan**

Kelompok	Rata-rata Jarak Ruang antara Glomerulus dengan Kapsula Bowman (μm)	Nilai Rata-rata dari Rata-rata Jarak Ruang antara Glomerulus dengan Kapsula Bowman \pm SD (μm)
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	12,50 12,28 13,62 15,85 9,82	12,814 \pm 2,192
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	11,16 11,42 12,50 14,55 11,61	12,248 \pm 1,382
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	12,50 15,44 12,76 11,38 3,48	12,112 \pm 2,519
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	11,42 12,32 12,32 13,39 12,95	12,480 \pm 0,746
V (Larutan CMC 0,5%)	13,21 11,88 12,28 13,39 13,39	12,830 \pm 0,703

Tabel 22

Hasil Pengukuran Jarak Ruang antara Glomerulus dengan Kapsula Bowman Rata-Rata Pada Mencit Betina

Kelompok	Rata-rata Jarak Ruang antara Glomerulus dengan Kapsula Bowman (μm)	Nilai Rata-rata dari Rata-rata Jarak Ruang antara Glomerulus dengan Kapsula Bowman \pm SD (μm)
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	11,38	12,050 \pm 0,948
	12,72	
	11,38	
	11,38	
	13,39	
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	13,39	12,41 \pm 0,714
	11,61	
	11,83	
	12,72	
	12,5	
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	9,38	12,775 \pm 2,065
	14,73	
	14,06	
	12,95	
	12,76	
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	10,71	10,712 \pm 0,821
	11,16	
	11,83	
	10,04	
	9,82	
V (Larutan CMC 0,5%)	16,33	12,282 \pm 3,236
	13,39	
	12,28	
	12,05	
	7,36	

Tabel 23

**Hasil Pengukuran Diameter Vena Sentralis Rata-rata
pada Mencit Jantan**

Kelompok	Diameter Rata-rata Vena Sentralis (µm)	Nilai Rata-rata dari Rata-Rata Diameter Vena Sentralis ± SD (µm)
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	39,91 38,39 36,61 39,02 43,75	39,536 ± 2,648
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	39,28 36,84 37,77 44,02 38,13	39,108 ± 2,940
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	35,98 40,45 40,80 35,98 41,34	38,910 ± 2,693
IV (Dosis 112.708 mg/kg bb mencit)	39,29 42,14 37,77 39,02 36,34	38,912 ± 2,150
V (Larutan CMC 0,5%)	41,07 42,23 40,18 38,13 37,77	39,876 ± 1,907

Tabel 24

**Hasil Pengukuran Diameter Vena Sentralis Rata-rata
pada Mencit Betina**

Kelompok	Diameter Rata-rata Vena Sentralis (µm)	Nilai Rata-rata dari Rata-Rata Diameter Vena Sentralis ± SD (µm)
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	37,77 39,29 37,23 38,39 39,91	38,518 ± 1,092
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	35,45 36,88 40,18 47,05 42,23	40,358 ± 4,596
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	38,66 41,34 40,18 40,8 40,8	40,356 ± 1,033
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	38,39 40,45 37,76 35,71 38,66	38,194 ± 1,711
V (Larutan CMC 0,5%)	40,18 39,91 38,13 37,77 39,91	39,180 ± 1,135

Tabel 25
Persentase Kerusakan Sel Hati Mencit Jantan Setelah
14 Hari Perlakuan

Kelompok	Degenerasi	Ulangan ke-					Rata-rata
		1	2	3	4	5	
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	0%	100	100	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0	0	0
	> 40%	0	0	0	0	0	0
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	0%	100	100	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0	0	0
	> 40%	0	0	0	0	0	0
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	0%	100	100	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0	0	0
	> 40%	0	0	0	0	0	0
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	0%	100	100	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0	0	0
	> 40%	0	0	0	0	0	0
V (Larutan CMC 0,5%)	0%	100	100	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0	0	0
	> 40%	0	0	0	0	0	0

Tabel 26
Persentase Kerusakan Sel Hati Mencit Betina Setelah
14 Hari Perlakuan

Kelompok	Degenerasi	Ulangan ke-					Rata-rata
		1	2	3	4	5	
I (Dosis 813,3 mg/kg bb mencit)	0%	100	100	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0	0	0
	> 40%	0	0	0	0	0	0
II (Dosis 2033,3 mg/kg bb mencit)	0%	100	100	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0	0	0
	> 40%	0	0	0	0	0	0
III (Dosis 5083,2 mg/kg bb mencit)	0%	100	100	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0	0	0
	> 40%	0	0	0	0	0	0
IV (Dosis 12.708 mg/kg bb mencit)	0%	100	100	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0	0	0
	> 40%	0	0	0	0	0	0
V (Larutan CMC 0,5%)	0%	100	100	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0	0	0
	> 40%	0	0	0	0	0	0

Lampiran 1

Penetapan Dosis

Penentuan dosis terbesar ditentukan dengan uji pendahuluan untuk mengetahui dosis terbesar yang dapat disonde kepada mencit. Dosis terbesar yang dapat disondekan kepada mencit sebesar 12,708 g/kg bb (dosis 4).

Dosis IV untuk 20 gram mencit :

$$12,708 \text{ g/kg bb} \times 0,02 \text{ kg bb} = 0,254 \text{ gserbuk obat herbal "FAD"}$$

Dari dosis tersebut kemudian dilakukan pengenceran sebesar 2,5 kalinya.

Sehingga, dosis 1, 2 dan 3 yang digunakan sebagai larutan uji sebesar 0,813 g/kg bb, 2,033 g/kg bb dan 5,083 g/kg bb mencit.

Lampiran 2

Cara Pembuatan Larutan Uji

Larutan CMC 0,5% dibuat dengan menimbang 50 mg CMC yang kemudian dikembangkan dengan air hangat sebanyak 20 kali berat CMC yang ditimbang, setelah semua CMC tercampur dengan merata dalam air hangat, larutan ini kemudian ditambahkan aquadest sampai volume 10 ml. Dosis yang digunakan berturut-turut adalah 0,813 g/kg bb, 2,033 g/kg bb, 5,083 g/kg bb dan 12,708 g/kg bb mencit.

a. Larutan uji dosis 4

Pembuatan suspensi uji dilakukan dengan menimbang serbuk obat herbal "FAD" sebanyak 10,51 g kemudian disuspensikan dengan CMC 0,5% hingga 10 ml. diperoleh suspensi uji dengan konsentrasi 1051 mg/ml.

b. Larutan uji dosis 3

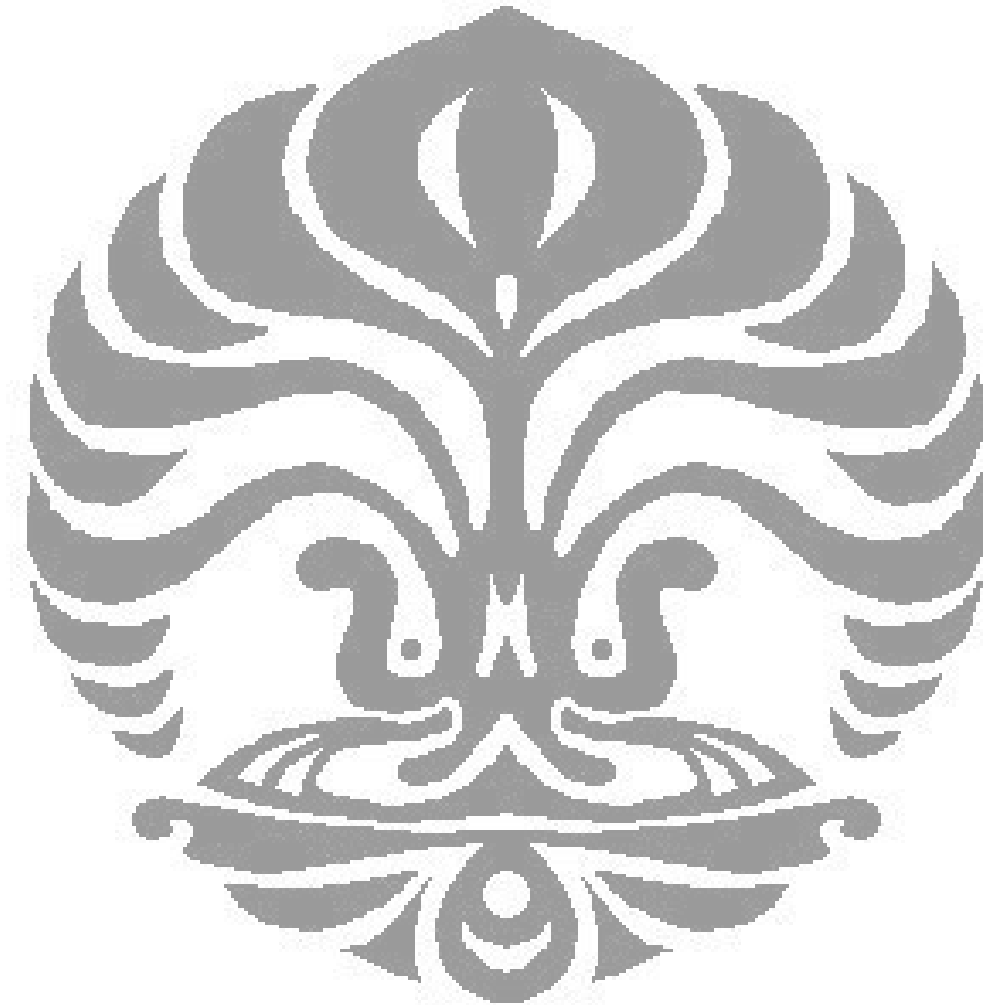
Pipet 1,6 ml suspensi uji dosis IV, kemudian cukupkan volumenya hingga 4 ml dengan larutan CMC 0,5%, aduk hingga homogen, diperoleh suspensi uji dengan konsentrasi 420,4 mg/ml.

c. Larutan uji dosis 2

Pipet 0,64 ml suspensi uji dosis IV, kemudian cukupkan volumenya hingga 4 ml dengan larutan CMC 0,5%, aduk hingga homogen, diperoleh suspensi uji dengan konsentrasi 168,16 mg/ml.

d. Larutan uji dosis 1

Pipet 0,25 ml suspensi uji dosis IV, kemudian cukupkan volumenya hingga 4 ml dengan larutan CMC 0,5%, aduk hingga homogen, diperoleh suspensi uji dengan konsentrasi 420,4 mg/ml.



Lampiran 3

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) Terhadap Jumlah Eritrosit Mencit Jantan Sebelum, Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

H_a = Ada perbedaan jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

		dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Eritrosit-0	Between Groups	4	5,57	1,39	0,80	0,540
	Within Groups	20	34,84	1,74		
	Total	24	40,41			
Eritrosit-24	Between Groups	4	29,303	7,326	8,15	0,061
	Within Groups	20	17,977	0,899		
	Total	24	47,280			
Eritrosit-14	Between Groups	4	12,83	3,21	1,61	0,211
	Within Groups	20	39,90	2,00		
	Total	24	52,73			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,540 ; maka Ho diterima.

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,061 ; maka Ho diterima.

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,211 ; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

- Data jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum perlakuan, tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah eritrosit mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah eritrosit mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 4

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) Terhadap Jumlah Eritrosit Mencit Betina Sebelum, Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah eritrosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan jumlah eritrosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

H_a = Ada perbedaan jumlah eritrosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

		dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Eritrosit-0	Between Groups	4	6,53	1,63	1,03	0,416
	Within Groups	20	31,69	1,58		
	Total	24	38,22			
Eritrosit-24	Between Groups	4	2672,50	668,12	264,13	0,153
	Within Groups	20	50,59	2,53		
	Total	24	2723,09			
Eritrosit-14	Between Groups	4	2427,89	606,97	509,01	0,259
	Within Groups	20	23,85	1,19		
	Total	24	2451,74			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,416 ; maka H_0 diterima.

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,153 ; maka H_0 diterima.

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,259 ; maka H_0 diterima.

Kesimpulan :

- Data jumlah eritrosit mencit betina pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah eritrosit mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah eritrosit mencit betina pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 5

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) Terhadap Jumlah Leukosit Mencit Jantan Sebelum, Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

H_a = Ada perbedaan jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

		dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Leukosit-0	Between Groups	4	13,64	3,41	0,35	0,841
	Within Groups	20	195,07	9,75		
	Total	24	208,71			
Leukosit-24	Between Groups	4	91,76	22,94	13,17	0,051
	Within Groups	20	34,83	1,74		
	Total	24	126,59			
Leukosit-14	Between Groups	4	17,61	4,40	0,52	0,725
	Within Groups	20	170,59	8,53		
	Total	24	188,20			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,841 ; maka H_0 diterima.

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,051 ; maka H_0 diterima.

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,725 ; maka H_0 diterima.

Kesimpulan :

- Data jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah leukosit mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah leukosit mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 6

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) Terhadap Jumlah Leukosit Mencit Betina Sebelum, Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah leukosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan jumlah leukosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

H_a = Ada perbedaan jumlah leukosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

		dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Leukosit-0	Between Groups	4	91,58	22,90	4,07	0,054
	Within Groups	20	112,58	5,63		
	Total	24	204,16			
Leukosit-24	Between Groups	4	6,68	1,67	0,49	0,744
	Within Groups	20	68,33	3,42		
	Total	24	75,01			
Leukosit-14	Between Groups	4	99,8	25,0	2,18	0,109
	Within Groups	20	229,5	11,5		
	Total	24	329,3			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,054 ; maka Ho diterima.

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,744 ; maka Ho diterima.

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,109 ; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

- Data jumlah leukosit mencit betina pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah leukosit mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah leukosit mencit betina pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 7

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) Terhadap Jumlah Trombosit Mencit Jantan Sebelum, Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

H_a = Ada perbedaan jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

		dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Trombosit-0	Between Groups	4	7,99	2,00	1,43	0,260
	Within Groups	20	27,92	1,40		
	Total	24	35,91			
Trombosit-24	Between Groups	4	3,12	0,78	0,58	0,681
	Within Groups	20	26,95	1,35		
	Total	24	30,07			
Trombosit-14	Between Groups	4	10,160	2,540	2,57	0,069
	Within Groups	20	19,744	0,987		
	Total	24	29,905			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,260 ; maka H_0 diterima.

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,681 ; maka H_0 diterima.

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,069 ; maka H_0 diterima.

Kesimpulan :

- Data jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah trombosit mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah trombosit mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 8

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) Terhadap Jumlah Trombosit Mencit Betina Sebelum, Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah trombosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan jumlah trombosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

H_a = Ada perbedaan jumlah trombosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

		dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Trombosit-0	Between Groups	4	7,99	2,00	1,43	0,260
	Within Groups	20	27,92	1,40		
	Total	24	35,91			
Trombosit-24	Between Groups	4	3,12	0,78	0,58	0,681
	Within Groups	20	26,95	1,35		
	Total	24	30,07			
Trombosit-14	Between Groups	4	10,160	2,540	2,57	0,069
	Within Groups	20	19,744	0,987		
	Total	24	29,905			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,260 ; maka H_0 diterima.

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,681 ; maka H_0 diterima.

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,069 ; maka H_0 diterima.

Kesimpulan :

- Data jumlah trombosit mencit betina pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah trombosit mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah trombosit mencit betina pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 9

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) Terhadap Jumlah Hemoglobin Mencit Jantan Sebelum, Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan jumlah hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

H_a = Ada perbedaan jumlah hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

		dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Trombosit-0	Between Groups	4	30,65	7,66	1,71	0,186
	Within Groups	20	89,39	4,47		
	Total	24	120,04			
Trombosit-24	Between Groups	4	15,01	3,75	1,11	0,379
	Within Groups	20	67,62	3,38		
	Total	24	82,63			
Trombosit-14	Between Groups	4	9,46	2,37	0,69	0,610
	Within Groups	20	68,91	3,45		
	Total	24	78,37			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,186 ; maka H_0 diterima.

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,379; maka H_0 diterima.

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,610 ; maka H_0 diterima.

Kesimpulan :

- Data jumlah hemoglobin mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah hemoglobin mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah hemoglobin mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 10

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) Terhadap Jumlah Hemoglobin Mencit Betina Sebelum, Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah hemoglobin mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan jumlah hemoglobin mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

H_a = Ada perbedaan jumlah hemoglobin mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

		dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Trombosit-0	Between Groups	4	3,08	0,77	0,28	0,888
	Within Groups	20	55,28	2,76		
	Total	24	58,36			
Trombosit-24	Between Groups	4	19,67	4,92	3,44	0,057
	Within Groups	20	28,61	1,43		
	Total	24	48,28			
Trombosit-14	Between Groups	4	14,35	3,59	1,37	0,279
	Within Groups	20	52,29	2,61		
	Total	24	66,64			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,888 ; maka Ho diterima.

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,057 ; maka Ho diterima.

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,279 ; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

- Data jumlah hemoglobin mencit betina pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah hemoglobin mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jumlah hemoglobin mencit betina pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 11

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) Terhadap Diameter Kapsula Bowman Mencit Jantan dan Mencit Betina (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada diameter kapsula Bowman .

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan yang bermakna pada diameter kapsula Bowman antar kelompok perlakuan .

H_a = Ada perbedaan yang bermakna pada diameter kapsula Bowman antar kelompok perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak
Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

Uji ANOVA Satu Arah Diameter Kapsula Bowman Mencit Jantan

	dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4	40,2	10,0	0,60	0,666
Within Groups	20	334,4	16,7		
Total	24	374,5			

Uji ANOVA Satu Arah Diameter Kapsula Bowman Mencit Betina

	dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4	52,5	13,1	0,76	0,563
Within Groups	20	345,2	17,3		
Total	24	397,7			

Nilai P mencit jantan = 0,666 ; maka H_0 diterima.

Nilai P mencit betina = 0,563; maka H_0 diterima.

Kesimpulan :

- Data diameter kapsula Bowman mencit jantan tidak berbeda secara bermakna.
- Data diameter kapsula Bowman mencit betina tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 12

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) terhadap Jarak Ruang antara Glomerulus dengan Kapsula Bowman Mencit Jantan dan Mencit Betina (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada data jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula Bowman.

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan yang bermakna pada data jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula Bowman antar kelompok perlakuan.

H_a = Ada perbedaan yang bermakna pada data jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula Bowman antar kelompok perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

Uji ANOVA Satu Arah Jarak Ruang antara Glomerulus
dengan Kapsula Bowman Mencit Jantan

	dF	Sum square	of Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4	2,11	0,53	0,19	0,942
Within Groups	20	56,43	2,82		
Total	24	58,54			

Uji ANOVA Satu Arah Jarak Ruang antara Glomerulus
dengan Kapsula Bowman Mencit Betina

	dF	Sum square	of Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4	12,50	3,12	0,93	0,467
Within Groups	20	67,29	3,36		
Total	24	79,78			

Nilai P mencit jantan = 0,942 ; maka H_0 diterima.

Nilai P mencit betina = 0,467; maka H_0 diterima.

Kesimpulan :

- Data jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula bowman mencit jantan tidak berbeda secara bermakna.
- Data jarak ruang antara glomerulus dengan kapsula bowman mencit betina tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 13

Uji Analisis Variansi Satu Arah (*One-way ANOVA*) terhadap Diameter Vena Sentralis Mencit Jantan dan Mencit Betina (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada data diameter vena sentralis.

Hipotesa : H_0 = Tidak ada perbedaan yang bermakna pada data diameter vena sentralis antar kelompok perlakuan .

H_a = Ada perbedaan yang bermakna pada diameter vena sentralis antar kelompok perlakuan.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika $P < 0,05$ maka H_0 ditolak
Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima

Hasil perhitungan :

Uji ANOVA Satu Arah Diameter Vena Sentralis Mencit Jantan

	dF	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4	3,61	0,90	0,14	0,963
Within Groups	20	124,66	6,23		
Total	24	128,27			

Uji ANOVA Satu Arah Diameter Vena Sentralis Mencit Betina

	dF	Sum of Square	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4	20,41	5,10	0,92	0,470
Within Groups	20	110,40	5,52		
Total	24	130,81			

Nilai P mencit jantan = 0,963 ; maka H_0 diterima.

Nilai P mencit betina = 0,470 ; maka H_0 diterima.

Kesimpulan :

- Data diameter vena sentralis mencit jantan tidak berbeda secara bermakna.
- Data diameter vena sentralis mencit betina tidak berbeda secara bermakna.